

# Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2014

О. В. Титорович<sup>1</sup>, Е. Б. Люлина<sup>1</sup>, Т. В. Плетенева<sup>1</sup>, Т. В. Максимова<sup>1</sup>,  
А. В. Сыроешкин<sup>2</sup>, Е. В. Успенская<sup>1</sup>, Т. Н. Бурдейная<sup>3</sup>, Г. А. Шандрюк<sup>4</sup>

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТА (НАТРИЯ СУЛЬФИТА) С СОЛЯМИ 3-ГИДРОКСИ-6-МЕТИЛ-2-ЭТИЛПИРИДИНА

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198, titorovicholga@gmail.com

<sup>2</sup> ФГБУ “Институт прикладной геофизики”, Москва, Россия, ул. Ростокинская, 9, Москва, Россия, 129128

<sup>3</sup> ЗАО “Легкая вода”, ул. Малая Юшуньская, 1, корп. 1, Москва, Россия, 117303

<sup>4</sup> Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева РАН, Лаборатория модификации полимеров, Ленинский просп., 29, Москва, Россия, 119991

В настоящей работе методом биологического тестирования на клеточной культуре (модель *SpiroTox*) в водных растворах разного изотопного состава и термическим анализом твердофазных субстанций исследовано взаимодействие вспомогательного вещества класса антиоксидантов — натрия сульфита — и фармацевтической субстанции 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина гидрохлорида.

**Ключевые слова:** фармацевтическая субстанция; вспомогательное вещество; 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридин; натрия сульфит; SpiroTox; термический анализ.

В последние годы все большее внимание уделяется биофармацевтическим характеристикам вспомогательных веществ, влияющих на эффективность и безопасность лекарств [1]. В системе “лекарство — организм” многие вспомогательные вещества теряют предполагаемую индифферентность. Вспомогательные вещества класса антиоксидантов сами по себе обладают биологической активностью и могут влиять на терапевтическую активность действующего вещества [2]. Кроме того, сохраняя стабильность в твердой лекарственной форме при обычной температуре, они способны проявлять химическую реакционную способность в процессе производства жидких лекарственных форм и в жидких средах организма.

Вспомогательные вещества класса антиоксидантов: сульфит натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), гидросульфит натрия ( $\text{NaHSO}_3$ ) или продукт дегидратации последнего — дисульфит натрия (метабисульфит, пиросульфит натрия,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) — предотвращают окисление действующих субстанций в парентеральных, ингаляционных и пероральных лекарственных формах. Эти соединения используют также в качестве антибактериальных консервантов и противогрибковых средств [3]. Например, сульфит натрия включен в технологический процесс получения жидких лекарственных форм солей 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина (I) (глазные капли “Эмоксипин”, раствор для инъекций “Мексидол”).

### Экспериментальная часть

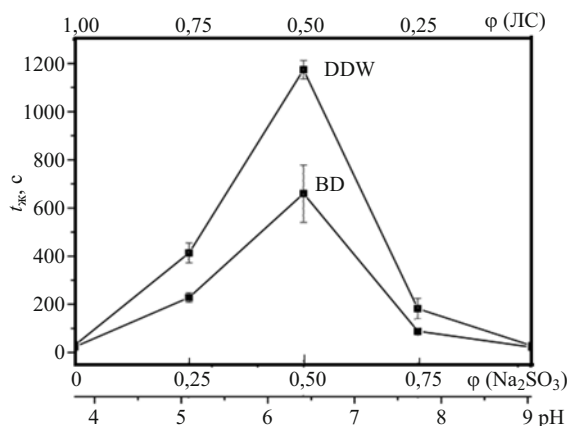
В работе использовали субстанцию гидрохлорида I (ООО “Бион”, Россия), сульфит натрия (Sigma-Aldrich), воду разного изотопного состава — с пониженным содержанием дейтерия (DDW, D/H = 6 ppm, ЗАО “Лёгкая вода”; деионизированная (высокоомная) вода (BD, 18 МОм · см, D/H = 140 ppm, Milli-Q – Millipore).

В качестве тест-объекта использовали клеточный биосенсор — инфузории *Spirostomum ambiguum*. Установка для исследования состояла из 5-луночного планшета с термостатируемой оболочкой (Lauda Alpha A6) и бинокюляра МБС-10. В лунки вносили растворы субстанций в “легкой” воде – DDW (deuterium depleted water) и бидистиллированной (BD) на DDW и BD с концентрациями  $(2 \div 5) \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $T = 28^\circ\text{C}$ .

Термический анализ методом дифференциальной сканирующей калориметрии проводили на приборе DSC823e (“Mettler Toledo”, Швейцария) при скорости изменения температуры 20 град/мин в атмосфере аргона.

### Результаты и их обсуждение

При исследовании механизмов воздействия фармацевтической и вспомогательной субстанций на клетку обнаружено, что время жизни (скорость гибели) инфузорий в растворах гидрохлорида I, сульфита натрия и их комбинаций зависит от мольного соотношения субстанций (рис. 1). При этом эквимолярное соотношение компонентов демонстрирует минимальную токсич-



**Рис. 1.** Диаграмма “концентрация — ответ” индивидуального и комбинированного воздействия гидрохлорида I и сульфита натрия на *S. ambigua* в бидистиллированной (BD) и обедненной по дейтерию (DDW) воде: по оси абсцисс — молярная доля ( $\phi$ ) компонента, по оси ординат — продолжительность жизни инфузорий.  $N = 5, p = 0,95$ .

ность. При молярных соотношениях с преобладанием одного из компонентов продолжительность жизни одноклеточных организмов снижается в десятки раз.

Кривые “концентрация — ответ” идентичны по форме для обоих типов воды — бидистиллированной и обедненной по дейтерию. Как и в предыдущих исследованиях [4, 5], вода, обедненная по дейтерию, проявляла антидотные свойства: при снижении соотношения дейтерий/протий от 140 до 6 ppm, продолжительность жизни инфузорий в экстремальной точке возрастала в 2 раза (рис. 1).

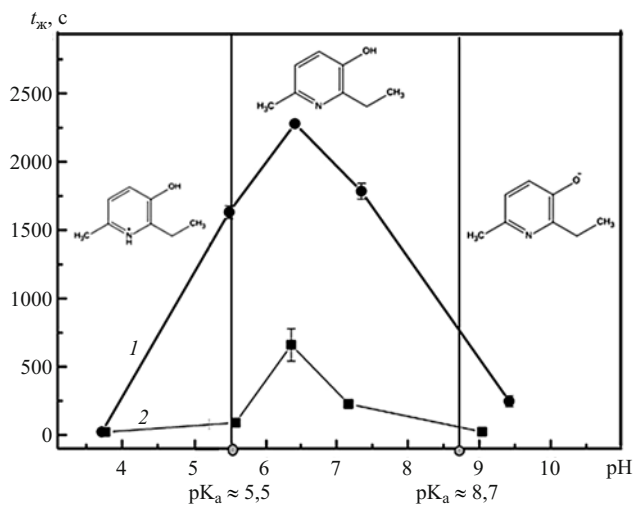
Для исключения возможного влияния pH на токсический эффект был проведен аналогичный эксперимент в отсутствие гидрохлорида I и  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . В водных растворах при pH в интервале 4–9 продолжительность жизни инфузорий значительно превышала одночасовой период наблюдения.

При индивидуальном воздействии гидрохлорида I в растворах с разными значениями pH кривая выживаемости симбатна кривой для комбинации с  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (рис. 2). В отсутствие вспомогательного вещества продолжительность жизни биообъекта в нейтральных растворах возрастает в 3 раза. Для объяснения существования максимума выживаемости использовали значения  $\text{pK}_a$  равновесий ионизации пиридиниевого катиона и фенольного гидроксила. Поскольку для I эти данные отсутствуют, использовали значения  $\text{pK}_a$  для близких по структуре соединений (таблица).

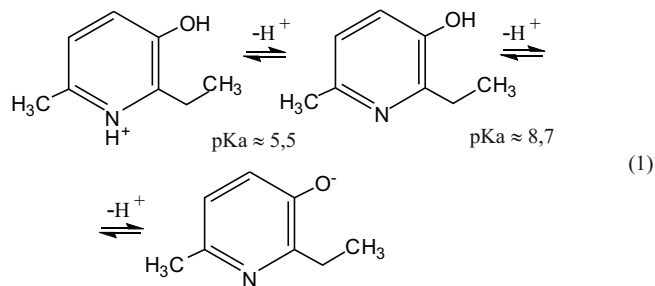
Равновесия депротонирования I в растворах с разными значениями pH (1):

#### Значения $\text{pK}_a$ производных пиридина и фенола [6]

Пиридин и его алкильные производные	$\text{pK}_a(\text{BH}^+)$	Фенол и гидроксипроизводные пиридина	$\text{pK}_a(\text{R-OH})$
Пиридин	5,23	Фенол	9,99
3-Метилпиридин	5,63	3-пиридинол	8,72
2-Этилпиридин	5,56	2-пиридинол	11,62



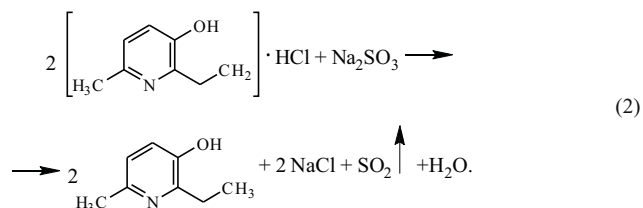
**Рис. 2.** pH-Диаграмма для гидрохлорида 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина: зависимость времени жизни *S. ambigua* 0,025 моль/л растворе действующего вещества при различных pH (1) и в смеси с сульфитом натрия в соотношениях 3:1, 1:1, 1:3 (2).



позволяют заключить, что область преобладания молекулярной формы имеет границы pH от 5,5 до 8,7 (рис. 2).

Из полученных результатов следует, что ионные и молекулярная формы I по-разному воздействуют на клетку. Кроме различия в механизмах всасывания, существенным фактором снижения токсичности может быть низкая растворимость в воде образующегося органического основания.

Как следует из полученных результатов, обнаруженный экстремум соответствовал значениям pH, близким к нейтральным. Это объясняется реакцией (2) между солевой формой фармацевтической субстанции и сульфитом натрия, используемым в качестве вспомогательного вещества:



При добавлении вспомогательного вещества-антиоксиданта к раствору сукцината I (препарат “Мексидол”, раствор для инъекций) возможна аналогичная реакция (3):

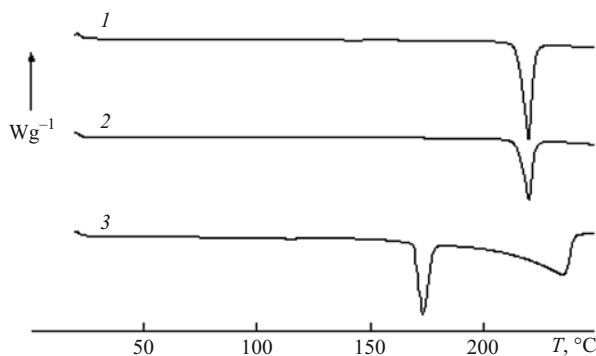
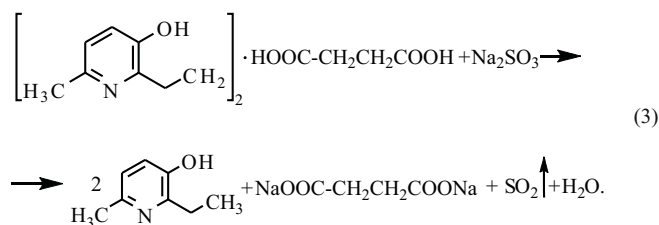


Рис. 3. ДСК-кривые эмоксипина гидрохлорида (1), механической смеси эмоксипина гидрохлорида и натрия сульфита (2) и той же смеси после растворения в воде и удаления растворителя (3).



В обоих случаях достигается значение pH, при котором образуются малорастворимая молекулярная форма субстанции и газообразный  $\text{SO}_2$ , частично растворимый в водной фазе, что позволяет ему проявлять антиоксидантные свойства.

Таким образом, в технологической схеме производства жидких лекарственных форм гидрохлорида I (эмоксипин) или сукцината I (мексидол) при добавлении сульфита натрия роль антиоксиданта в готовой лекарственной форме играет не само вспомогательное вещество, а продукт его превращения — серы(IV) диоксид  $\text{SO}_2$ .

Взаимодействие между вспомогательной и фармацевтической субстанциями подтверждают результаты, полученные методом дифференциальной сканирующей калориметрии (рис. 3). Положение максимумов пиков на термоаналитических кривых гидрохлорида I и его смеси с сульфитом натрия совпадают ( $T_{\text{пл}} = 217^\circ\text{C}$ ). В то же время после растворения бинарной

смеси в воде и удаления растворителя наблюдали иной результат DSC-сканирования: пик смещался в область более низких температур. Принимая во внимание взаимодействие между солевой формой действующей субстанции и вспомогательным веществом, можно считать, что значение  $T_{\text{пл}} = 171^\circ\text{C}$  соответствует температуре плавления основания I. Появление пика при  $233^\circ\text{C}$  может соответствовать плавлению дополнительной полиморфной формы основания I, образовавшейся после растворения в воде и удаления растворителя [7, 8].

Проведенные исследования свидетельствуют о взаимодействии фармацевтической субстанции гидрохлорида I и антиоксиданта  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  с образованием  $\text{SO}_2$ . Таким образом, в производственном процессе следует учитывать возможное взаимодействие солевых форм фармацевтических субстанций со вспомогательными веществами основной природы, сопровождающееся смещением pH, образованием малорастворимого органического основания и изменением механизма действия вспомогательного вещества.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Тенцова, О. И. Терешкина, И. П. Рудакова и др., *Фармация*, № 7, 3 – 6 (2012).
2. T. Oliphant, A. Mitra, M. Wilkinson, *Contact Dermatitis*, **66**(3), 128 – 130 (2012).
3. Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Sian C. Owen (eds.), *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th ed., Pharmaceutical Press, London (2006), pp. 708 – 710.
4. Т. Н. Бурдейная, О. Ю. Зрелов, Т. В. Максимова и др., *Вестник РУДН, Сер. Мед.*, № 2, 5 – 9 (2013).
5. Е. Б. Люлина, К. Мвайтука, О. В. Титорович и др., *Тез. докл. VI Всерос. научн. конф. "Молодая фармация — потенциал будущего"*, Санкт-Петербург (2014), сс. 492 – 495.
6. TOXNET DATABASE of US National Library of Medicine, ChemIDplusA — Режим доступа: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/109-00-2>.
7. M. Farias, R. Carneiro, *Molecules*, **19**(9), 14128 – 14138 (2014).
8. C. Baraldi, A. Tinti, S. Ottani, M. C. Gamberini, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, № 100, 239 – 240 (2014).

Поступила 22.10.14

## INTERACTION OF ANTIOXIDANT (SODIUM SULFITE) WITH 3-HYDROXY-6-METHYL-2-ETHYLPYRIDINE SALTS

O. V. Titorovich<sup>1\*</sup>, E. B. Lyulina<sup>1</sup>, T. V. Pleteneva<sup>1</sup>, T. V. Maksimova<sup>1</sup>, A. V. Syroeshkin<sup>3</sup>, E. V. Uspenskaya<sup>1</sup>, T. N. Burdeinaya<sup>3</sup>, and G. A. Shandryuk<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia

<sup>2</sup> Institute of Applied Geophysics, Moscow, 129128 Russia

<sup>3</sup> "Legkaya Voda" Company, Moscow, 117303 Russia

<sup>4</sup> A. V. Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis, Russian Academy of Science, Moscow, 119991 Russia

\* e-mail: titorovicholga@gmail.com

In formulation of drugs it is necessary to take into account the possible interactions of salt forms of organic bases and excipients, which can lead to pH shift, formation of low-soluble organic bases, and change in the mechanism of their action. In this work, the interaction between a pharmaceutical substance (3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine as antihypoxant) and excipient (sodium sulfite as antioxidant) has been investigated on a cell culture (SpiroTox model) in aqueous solutions with different deuterium/protium ratios. Solid products of interaction were analyzed by method of differential scanning calorimetry (DSC).

**Keywords:** 3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine; sodium sulfite; pharmaceutical substance; drug-excipient interaction; SpiroTox; thermal analysis.