

Оптические методы в исследованиях хиральных свойств лекарственных средств. I. Валин в воде с различным содержанием дейтерия

А. В. Сыроешкин, Т. В. Плетенева, Е. В. Успенская, О. В. Левицкая

Российский университет дружбы народов, Медицинский институт,
117198, Москва, Россия

Статья поступила 19.01.2016 г.; Принята к печати 08.02.2016 г.

Резюме: Методами поляриметрии и лазерной дифракции света исследованы водные растворы валина (фармакологическая группа «Белки и аминокислоты»). Показано, что оптическая активность энантиомеров валина зависит от содержания дейтерия в водных растворах. Обсуждается вклад в оптическую активность растворов валина дейтерий-зависимых гетерофазных кластеров воды.

Ключевые слова: хиральная чистота лекарственных средств; поляриметрия; лазерная дифракция света; соотношение дейтерий/протий в воде.

Библиографическое описание: Сыроешкин АВ, Плетенева ТВ, Успенская ЕВ, Левицкая ОВ. Оптические методы в исследованиях хиральных свойств лекарственных средств. I. Валин в воде с различным содержанием дейтерия. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (1): 25–28.

Выход в свет Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII изд. открывает новые возможности для совершенствования системы контроля качества лекарственных средств и детального изучения механизмов их действия в организме. Например, включенные в новую фармакопею такие ОФС, как «Поляриметрия» (обновленный вариант) и «Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света» (новая статья) являются базовыми при разработке и контроле качества ЛС, обладающих оптической активностью [1]. Внимание мировых фармакопей к хиральной чистоте субстанций для фармацевтического применения обусловлено различиями в биологической активности оптических антиподов и равновесными процессами с образованием в организме их токсичных форм [2].

Равновесные процессы с участием оптических антиподов многообразны и мало изучены [3]. Так, при переходе с одного иерархического уровня организации живой материи на другой наблюдается замена оптических изомеров: например, природные белки состоят только из L-аминокислот, в то время как в состав клеточных мембран входят D-аминокислоты. Такого рода избирательность может быть связана с изотопным составом и другими физико-химическими характеристиками растворителя (воды), в котором проходило формирование биосистем. Влияние природы растворителя на оптические свойства описано в фармакопейном анализе: при замене растворителя величина удельного вращения раствора субстанции может изменяться вплоть до смены знака на противоположный [1, 4].

Известно, что вода не является однокомпонентной системой, но содержит изотопологи, в том числе H_2O , HDO и D_2O [5, 6]. Дейтерий $^2\text{H}(\text{D})$ — нерадиоактивный тяжелый изотоп водорода — влияет на размер, количество и время релаксации субмиллиметровых плотностных неоднородностей — гигантских гетерофазных кластеров (ГГК) воды [7, 8]. В связи с этим оптическая активность водных растворов хиральных лекарств является функцией изотопного состава воды.

Цель работы — методами поляриметрии и лазерной дифракции света исследовать влияние соотношения дейтерий/протий (D/H) на удельное вращение растворов оптических изомеров валина и размерные спектры гигантских гетерогенных кластеров воды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Субстанции L- и D-валина (L- и D-2-амино-3-метилбутановая кислота) с содержанием действующего вещества $\geq 98\%$, производитель «Sigma-Aldrich».

В качестве контрольных использовали растворы L-валина, приготовленные согласно Европейской фармакопее: 8% раствор в 6 М HCl , $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +26,5^\circ \div +29,0^\circ$ [4].

Деионизованную высокоомную воду (не менее 18 МОм/см при 25°C) готовили путем очистки апирированной дистиллированной воды в системе Milli-Q (фирма «Millipore», Великобритания), соотношение D/H = 140 ppm. Вода, обедненная по содержанию дейтерия, D/H = 6 ppm («легкая» вода, deuterium depleted water), ЗАО «Легкая вода», Москва. Тяжелая вода с содержанием 99,99% D_2O , «Sigma-Aldrich».

Измерение pH проводили потенциометрически (PP-20, «Sartorius», Германия).

Оптическую активность растворов валина измеряли с точностью 0,2% на автоматическом поляриметре Atago POL-1/2, Япония. Удельное вращение рассчитывали по формуле:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \alpha \cdot 100 / (w \cdot l),$$

где: α — измеренный угол вращения, град. при 20°C , w — масса-объемная концентрация раствора, %, l — длина поляриметрической трубки, дм.

Объемное распределение ГГК воды по размерам (размерные спектры) определяли методом лазерной дифракции света с применением лазерного малоуглового измерителя дисперсности (particle sizer) производства фирмы «Malvern» (модель 3600 Ec, луч мало-мощного (2 мВт) He-Ne лазера коллимирован до диа-

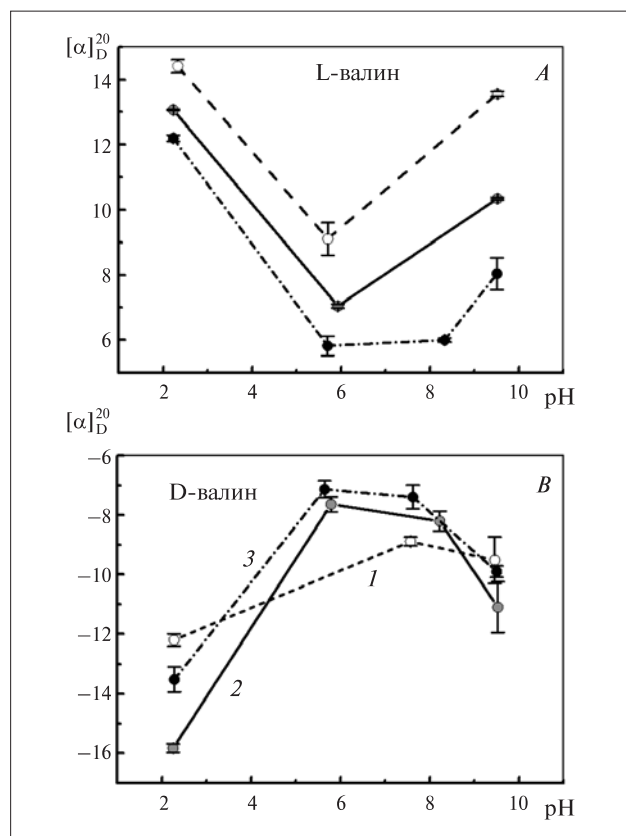


Рис. 1. Удельное вращение водных растворов L-валина (А) и D-валина (В) с разным соотношением D/H в зависимости от pH: 1 — вода, обедненная по дейтерию, — 6 ppt; 2 — деионизованная высокоомная вода — 140 ppt; 3 — тяжелая вода — 99,9% D₂O

метра 8 мм) [9]. Все измерения повторены не менее 5 раз; относительная ошибка измерений не превышала 20% при доверительной вероятности 0,95.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружено, что удельное вращение растворов оптических изомеров валина имеет достоверные различия в водах с разным соотношением D/H: деионизованной высокоомной — 140 ppt; обедненной по дейтерию — 6 ppt; тяжелой — 99,9% D₂O (рис. 1). Следует подчеркнуть, что если для L-валина зависимость оптической активности от содержания дейтерия проявляется в интервале pH = 2–10, то для D-валина эффект четко выражен только при pH=2. Удель-

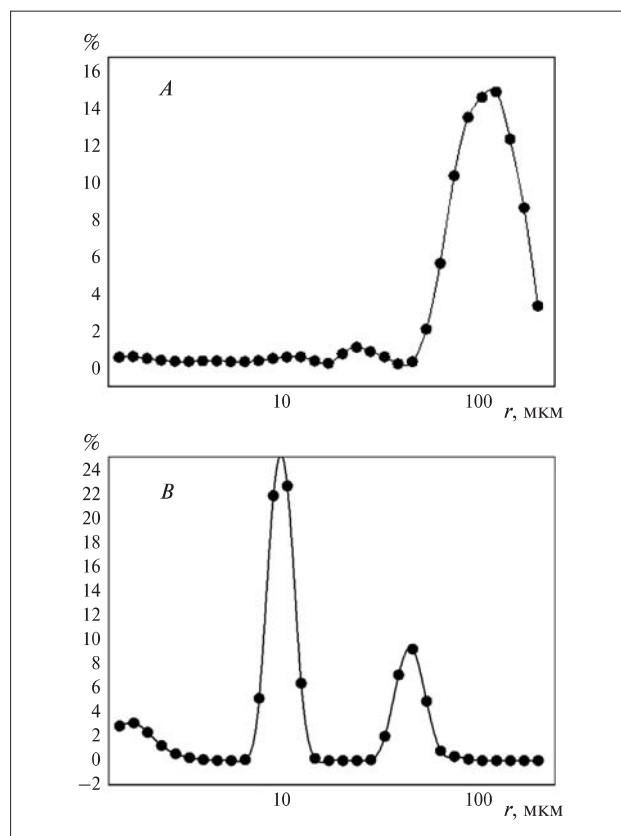


Рис. 2. Размерные спектры гигантских гетерогенных кластеров воды, формирующихся в растворах L-валина (А) и D-валина (В) при pH = 2,3 в «легкой» воде (D/H = 6 ppt); метод лазерной дифракции света

ное вращение растворов L-валина и доля дейтерия в воде антибатны: рост одного показателя ведет к снижению другого. Для D-валина такая зависимость отсутствует. Интересно, что минимальные значения оптической активности исследуемых растворов совпадают с формированием цвиттер-иона валина.

Наблюдаемые значения удельного вращения могут представлять собой аддитивные величины с учетом вклада растворителя в результате формирования надмолекулярных структур (ГГК), критически зависящего от концентрации дейтерия. Наши работы [5–8] и труды ряда других исследователей [10–12] указывают на существование долгоживущих (часы) плотностных неоднородностей в объемной фазе воды. В качестве примера представлен пример различия размеров ГГК воды для энантиомеров валина в легкой воде (рис. 2). L-валин индуцирует формирование более крупных плотностных неоднородностей ($r_{\text{max}} = 100$ мкм) в отличие от D-валина, в растворе которого существуют две размерные группы кластеров: $r_{\text{max1}} = 15$ мкм и $r_{\text{max2}} = 50$ мкм. Таким образом, различия удельного вращения изомеров валина можно объяснить влиянием хиральной среды, которая способна индуцировать или изменять оптическую активность субстанции [9, 13, 14].

Следует подчеркнуть, что суммарное количество ГГК в растворе L-валина снижается на два порядка в исследуемом интервале pH (табл. 1). В то же время в растворах D-валина объемная концентрация ГГК воды практически не меняется, что коррелирует с поляризметрическими результатами (рис. 1).

Таблица 1

ЗНАЧЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛАЗЕРНОГО МАЛОУГЛОВОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ НА ПЛОТНОСТНЫХ НЕОДНОРОДНОСТЯХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ВАЛИНА ПРИ D/H = 6 ppt

pH	Объемная концентрация плотностных неоднородностей (ГГК), %	
	L-валин	D-валин
2,3	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$7,0 \cdot 10^{-4}$
5,9	$3,0 \cdot 10^{-4}$	$7,0 \cdot 10^{-4}$
9,6	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные на модельной системе валина, свидетельствуют о важной роли изотопного эффекта растворителя в проявлении оптической активности водных растворов хиральных фармацевтических субстанций. Это особенно существенно в связи с различиями изотопного состава вод различных регионов, используемых для приготовления жидких лекарственных форм, что не может не отражаться на контроле их качества поляризметрическим методом.

Дальнейшее развитие Государственной фармакопеи потребует разработки и включения ОФС, связанной с хиральностью фармацевтических субстанций. Метод лазерной дифракции света, использованный нами ранее для оценки дисперсности гетерофазных систем [15] и включенный в ГФ XIII, получит дальнейшее развитие в плане детализации влияния изотопного состава воды на качество оптически активных лекарственных средств, выпускаемых в РФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 2. М.; 2015.
2. Rehman W, Arfons LM, Lazarus HM. The rise, fall and subsequent triumph of thalidomide: lessons learned in drug development. *The Adv Hematol*. 2011; 2(5): 291–308.
3. Твердислов ВА, Яковенко ЛВ, Жаворонков АА. Хиральность как проблема биохимической физики. *Российский химический журнал* 2007; LI(1): 13–22.

ОБ АВТОРАХ

Российский университет дружбы народов, Медицинский институт. Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8.
Сыроешкин Антон Владимирович. Заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, д-р биол. наук, проф.
Плетенева Татьяна Вадимовна. Профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии, д-р хим. наук, проф.
Успенская Елена Валерьевна. Доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, канд. хим. наук.
Левицкая Ольга Валерьевна. Ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Успенская Елена Валерьевна; uspenskaya75@mail.ru

OPTICAL METHODS IN THE STUDY OF DRUG CHIRAL PROPERTIES. I. VALINE IN AQUEOUS SOLUTIONS WITH DIFFERENT DEUTERIUM CONTENT

A. V. Syroeshkin, T. V. Pleteneva, E. V. Uspenskaya, O. V. Levitskaya

Peoples' Friendship University of Russia, Medical Institute
117198, Moscow, Russia

Abstract: Two optical methods — polarimetry and laser light diffraction — have been used to study valine aqueous solutions. It has been shown that optical activity of valine enantiomers depends on deuterium content in aqueous solutions. The influence of deuterium-dependant heterophase clusters of water on optical activity of valine aqueous solutions has been discussed.

Key words: drug chiral purity; polarimetry; laser light diffraction; deuterium/protium ratio in water.

For citation: Syroeshkin AV, Pleteneva TV, Uspenskaya EV, Levitskaya OV. Optical methods in the study of drug chiral properties. I. Valine in aqueous solutions with different deuterium content. *Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin* 2016; (1): 25–28.

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 2. Moscow; 2015 (in Russian).
2. Rehman W, Arfons LM, Lazarus HM. The rise, fall and subsequent triumph of thalidomide: lessons learned in drug development. *The Adv Hematol*. 2011; 2(5): 291–308.
3. Tverdislov VA, Yakovenko LV, Zhavoronkov AA. Chirality as a problem of Biochemical Physics. *Rossiyskiy himicheskiy zhurnal* 2007; LI(1): 13–22 (in Russian).
4. European Pharmacopoeia. 7.0.2011. V. 2. 3188.
5. Goncharuk VV, Lapshin VB, Burdeinaya TN, Pleteneva TV, Chernopyatko AS. Physicochemical Properties and Biological Activity of the Water Depleted of Heavy Isotopes. *Journal of Water Chemistry and Technology* 2011; 33(1): 8–13.
6. Смирнов АН, Гончарук ВВ, Успенская ЕВ, Николаев ГМ, Попов ПИ, Кармазина ТВ. и др. Вода как гетерогенная структура. Исследовано в России 2006; 88: 843–54.
7. Смирнов АН, Успенская ЕВ, Сыроешкин АВ, Лапшин ВБ, Гончарук ВВ, Плетенева ТВ. Структура воды и лазерные экспресс-методы определения подлинности. *Фармация* 2007; (5): 21–23.
8. Смирнов АН, Сыроешкин АВ. Супранадмолекулярные комплексы воды. *Российский химический журнал* 2004; 48(2): 125–35.
9. Крестов ГА, Королев ВП, Батов ДВ. Дифференцирующее действие замещения протия дейтерием на свойства растворителей. *Доклады Академии наук СССР* 1987; 293(4): 882–3.
10. Pollack GH. The role of aqueous interfaces in the cell. *Advances in Colloid and Interface Science* 2003; 103(2): 173–96.
11. Коваленко ВФ, Бордюк АЮ, Шутов СВ. Определение формы кластеров воды. *Оптика атмосферы и океана* 2011; 24(7): 601–605.
12. Фесенко ЕЕ, Терпугов ЕЛ. О необычных спектральных свойствах воды в тонком слое. *Биофизика* 1999; 44(1): 5–9.
13. Лобышев ВИ. Вода как сенсор слабых взаимодействий физической и химической природы. *Российский химический журнал* 2007; 51(1): 107–14.
14. Natori K. Electron-electron interaction in natural optical rotation. *Journal of the faculty of engineering* 1994; 74: 1–11.
15. Плетенева ТВ, Попов ПИ, Сыроешкин АВ, Берлянд АС, Шаназаров КС, Лесников ЕВ, Багирова ВЛ. Проект фармакопейной статьи «Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света». *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2007; (4): 104–107.

6. Smirnov AN, Goncharuk VV, Uspenskaya EV, Nikolaev GM, Popov PI, Karmazina TV, et al. Water as a heterogeneous structure. Issledovano v Rossii 2006; 88: 843–54 (in Russian).
7. Smirnov AN, Uspenskaya EV, Syroeshkin AV, Lapshin VB, Goncharuk VV, Pleteneva TV. The structure of water and laser rapid methods for determining authenticity. Farmatsiya 2007; (5): 21–23 (in Russian).
8. Smirnov AN, Syroeshkin AV. Supramolecular complexes of water. Rossiyskiy himicheskiy zhurnal 2004; 48(2): 125–35 (in Russian).
9. Krestov GA, Korolev VP, Batov DV. The differentiating effect of protium deuterium substitution on the properties of the solvent. Doklady akademii nauk SSSR 1987; 293(4): 882–3 (in Russian).
10. Pollack GH. The role of aqueous interfaces in the cell. Advances in Colloid and Interface Science 2003; 103(2): 173–96.
11. Kovalenko VF, Bordyuk AYU, Shutov SV. Determination of the shape of water clusters. Optika atmosfery i okeana 2011; 24(7): 601–605 (in Russian).
12. Fesenko EE, Terpugov EL. On unusual spectral properties of the water in a thin layer. Biofizika 1999; 44(1): 5–9 (in Russian).
13. Lobyshev VI. Water as a sensor of weak interactions of physical and chemical nature. Rossiyskiy himicheskiy zhurnal 2007; 51(1): 107–14 (in Russian).
14. Natori K. Electron-electron interaction in natural optical rotation. Journal of the faculty of engineering 1994; 74: 1–11.
15. Pleteneva TV, Popov PI, Syroeshkin AV, Berlyand AS, Shanazarov KS, Lesnikov EV, Bagirova VL. Project of pharmacopoeia article «Determination of particle size distribution by laser diffraction of light». Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya 2007; (4): 104–107 (in Russian).

AUTHORS

Peoples' Friendship University of Russia, Medical Institute, Miklukho-Maklaya street, 8, Moscow, 117198, Russian Federation.
Syroeshkin AV. Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Doctor of Biological Sciences.
Pleteneva TV. Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Doctor of Chemical Sciences, professor.
Uspenskaya EV. Docent of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. Candidate of Chemical Sciences.
Levitskaya OV. Assistant of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry.