СКРИНИНГ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СОКРИСТАЛЛОВ 4–АМИНОСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Христофорова А.С.

г. Москва, Университетская гимназия МГУ им. М.В. Ломоносова, 10 класс

Руководитель: Дрозд К.В., г. Иваново, ФГБУН «Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН», аспирант

На сегодняшний день самыми опасными заболеваниями в мире являются СПИД и туберкулез. К сожалению, количество эффективных лекарств от этих заболеваний не так велико.

Туберкулез – это заболевание инфекционной природы, вызываемое микобактериями и характеризующееся многообразием клинических форм и склонностью к рецидивам. Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения, ежегодно в мире выявляется около 9 млн. больных с различными клиническими формами туберкулеза, из них почти треть всех случаев заканчивается летальным исходом. Для лечения туберкулеза используют стандартный набор препаратов, которые условно подразделяются на 2 группы: лекарственные препараты первого ряда, как наиболее эффективные (изониазид, рифампицин, пиразинамид) и лекарственные препараты второго ряда, используемые в случае развития лекарственной резистентности к препаратам первого ряда.

Объектом нашего исследования была выбрана пара-аминосалициловая кислота – лекарственное средство, используемое в случае непереносимости противотуберкулезных препаратов первого ряда или множественной устойчивости микобактерий.

Предметом исследования является повышение стабильности пара-аминосалициловой кислоты.

Сегодня все больше исследований направлено не на разработку новых лекарственных препаратов, так как это довольно длительный и дорогостоящий процесс, а на поиск способов повышения эффективности уже известных лекарственных средств. Одним из перспективных способов улучшения таких важных свойств для фармацевтики, как растворимость и проницаемость, является получение многокомпонентных кристаллов, а именно образование гидратов/сольватов, солеобразование и получение сокристаллов.

Сокристалл – это многокомпонентный кристалл, где одним из компонентов является плохо растворимый, активный фармацевтический ингредиент, а в качестве второго компонента выступает молекула хорошо растворимого соединения, которая полностью усваивается организмом и участвует в ферментативных процессах. Привлекательность данного метода заключается в том, что за счет тщательного подбора второго компонента – коформера, возможна «тонкая» настройка физико-химических свойств исследуемого соединения [3].

Для скрининга новых сокристаллов 4–аминосалициловой кислоты были отобраны производные пиридина и пиримидина. Для оценки вероятности образования новой кристаллической фазы 4–аминосалициловой кислоты с коформером были использованы дифференциальная сканирующая калориметрия и рентгенофазовый анализ. В результате проделанного скрининга было подтверждено, что в трех из пяти исследуемых систем происходит образование новых фаз.

В качестве методов исследования были использованы наблюдение, анализ, обобщение, сбор данных, изучение литературы, микроскопические методы исследования.

1. Особенности пара-аминосалициловой кислоты

1.1. Понятие и свойства и пара-аминосалициловой кислоты (ПАСК)

Туберкулез – это широко распространенное в мире инфекционное

заболевание человека и животных, вызываемое различными видами микобактерий из группы Mycobacterium tuberculosis complex (M. tuberculosis и другими близкородственными видами), или палочками Коха [6].

Туберкулез занимает 2-е место среди инфекционных заболеваний по частоте смертельных исходов, уступая только СПИДу.

Существующие противотуберкулезные препараты первого ряда, активно назначаемые в прошлом веке, становятся все менее эффективными на сегодняшний день, вследствие появления у больных лекарственно-устойчивой формы. В этом случае вместе с основными препаратами применяют резервные.

Противотуберкулезные препараты первого ряда:

- Изониазид
- Рифампицин
- Пиразинамид
- Этамбутол
- Стрептомицин

Противотуберкулезные препараты второго ряда

- Циклосерин
- Офлоксацин
- Ципрофлоксацин
- Амикацин
- Канамицин
- Капреомицин
- Протионамид
- Этионамид
- Пара-аминосалициловая кислота

Объектом нашего исследования была выбрана пара-аминокислота, как одна из наиболее изученных из резервного ряда. 4–аминосалициловая кислота уже используется как противотуберкулезный препарат, однако из-за невысокой стабильности (она разлагается при незначительной температуре) ее использование как отдельного лекарства невозможно. Нашей задачей было повышение эффективности и стабильности пара-аминосалициловой кислоты.

Пара-аминосалициловая кислота входит в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов.

Для лечебных целей, используется ее натриевая соль, что обусловлено гораздо более высокой растворимостью лекарственного средства в воде (для сравнения: растворимость ПАСК 1 г/500 мл, а ее натриевой соли – 1 г/2 мл). Тем не менее, даже солеобразование не приводит к повышению стабильности данного лекарственного препарата.

Таблица 1

Растворимость в воде

PASA	1 г / 500 мл
PASA-Na	1 г / 2 мл

4–Аминосалициловая кислота склонна к декарбоксилированию (окислению) до токсичного 3–аминофенола как в твердом, так и жидком состоянии. На слайде представлена серия фотографий, наглядно показывающих, что процесс разложения сопровождается изменением цвета раствора с прозрачного на темно-коричневый, что свидетельствует о преобладании в нем 3–аминофенола.

В связи с этим таблетки пара-аминосалициловой кислоты необходимо запивать молоком, щелочной минеральной водой или 0,5 % раствором питьевой соды, т.к. кислота проявляет наибольшую стабильность в интервале pH 9,2–9,5.

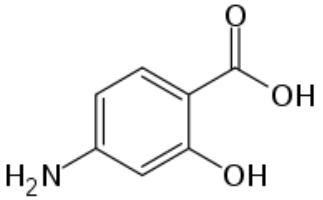


Рис. 1. Структурная формула пара-аминосалициловой кислоты (PASA)

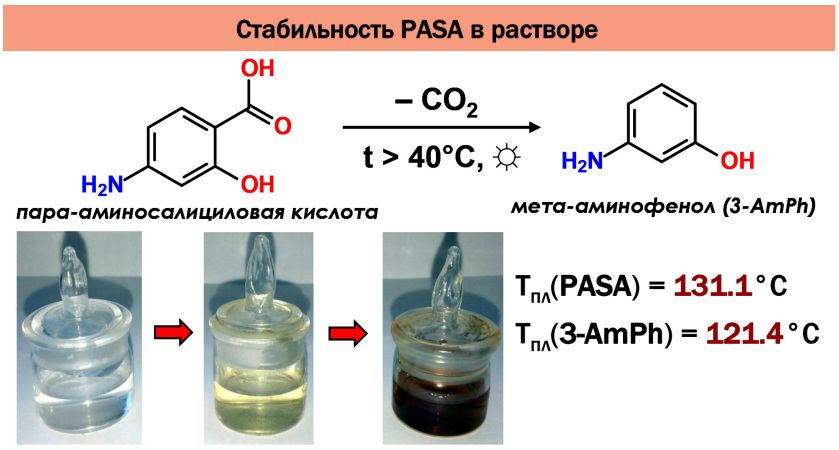


Рис. 2. Стабильность PASA в растворе

Аминосалициловая кислота обладает бактериостатическим действием в отношении палочки Коха. Механизм действия: аминосалициловая кислота конкурирует с парааминобензойной кислотой (ПАБК), подавляет синтез фолиевой кислоты в микобактериях туберкулеза, а также образование микобактина, компонента микобактериальной стенки, что приводит к уменьшению захвата железа палочки Коха.

Аминосалициловая кислота действует на микобактерии, находящиеся в состоянии активного размножения, и практически не действует на микобактерии в стадии покоя. Слабо влияет на возбудителя, располагающегося внутриклеточно, активна только в отношении Mycobacterium tuberculosis, не действует на другие нетуберкулезные микобактерии. Уменьшает вероятность развития бактериальной устойчивости к изониазиду и стрептомицину. Применяется только в комбинации с другими противотуберкулезными средствами, что замедляет развитие резистентности к ним [1].

Однако лечение туберкулеза – длительный процесс, занимающий от 6 месяцев до 2 лет непрерывного приема лекарств, что вызывает серьезные побочные эффекты (в случае с ПАСК это могут быть патология ЖКТ, болезни печени, нефросклероз с почечной недостаточностью). Это является еще одной причиной выдвинутой нами проблемы.

1.2. Получение многокомпонентных кристаллов

Особенностью кристаллов молекулярных комплексов является то, что их свойства могут сильно отличаться от свойств кристаллов исходных компонентов. Возможность при помощи сокристаллизации влиять на физические свойства фармацевтически активного компонента привлекает, в частности, фармацевтическую промышленность, поскольку введение дополнительных компонентов с образованием смешанных кристаллов лекарственных веществ может способствовать улучшению технологических и потребительских характеристик по сравнению с кристаллами индивидуального лекарственного вещества. Смешанные кристаллы могут лучше кристаллизоваться, фильтроваться, иметь лучшую прессуемость, устойчивость при хранении, меньшую гигроскопичность. Кроме того, получая смешанный кристалл определенного фармацевтического компонента, можно улучшать некоторые клинически важные свойства целевого соединения, например, скорость растворения, проницаемость через биологические барьеры [5].

Способы повышения эффективности лекарственных веществ представлены на рис. 3.

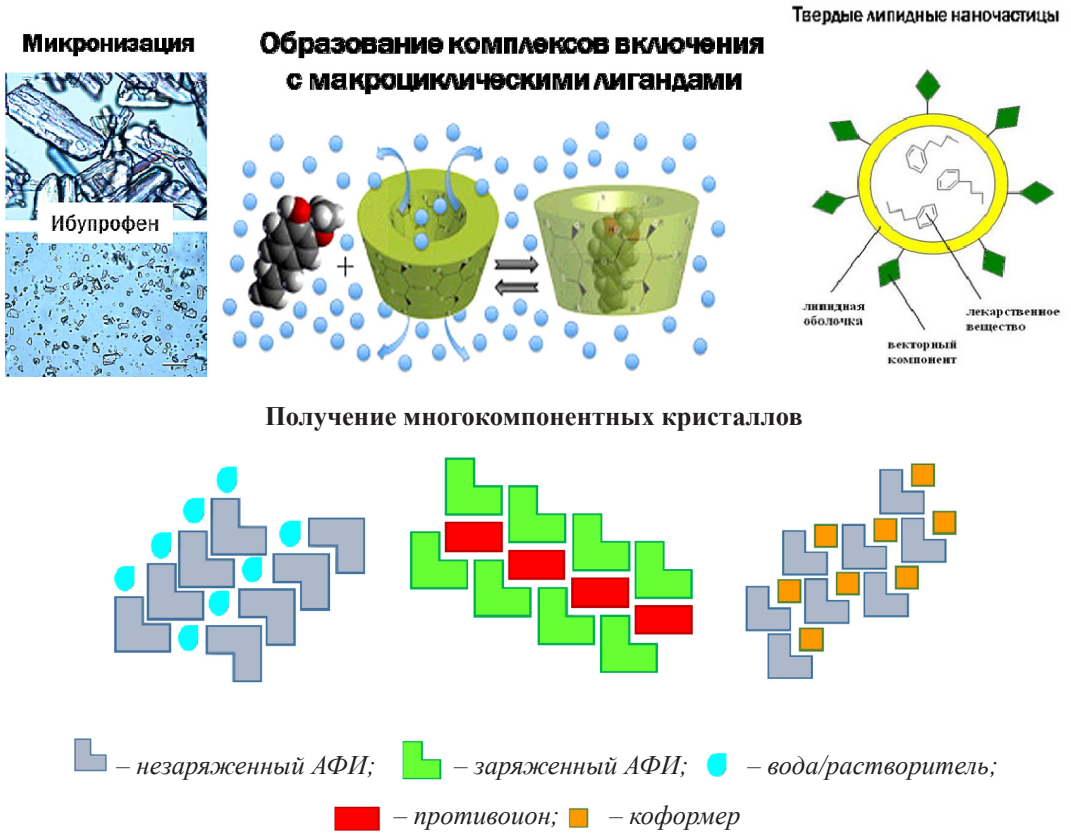


Рис. 3. Способы повышения эффективности лекарственных веществ

Таким образом, мы рассмотрели понятие и свойства пара- аминосалициловой кислоты.

2. Практическая часть

2.1. Этапы работы

Цель нашего проекта заключалась в поиске новых сокристаллов 4–аминосалициловой кислоты для дальнейшего исследования влияния сокристаллизации на свойства данного лекарственного средства. Наша работа над проектом включала в себя пять этапов, которые представлены на слайде. На первом этапе нам необходимо было отобрать ряд коформеров для проведения скрининга сокристаллов. Для этого мы провели поиск в Кембриджской Структурной базе данных известных многокомпонентных кристаллов ПАСК, что позволило отобрать 5 структурно-родственных коформер (рис. 4).

Следующим этапом было проведение ДСК-скрининга физической смеси 4–аминосалициловой кислоты с соответствующим коформером.

Третий этап заключался в пробоподготовке образцов, что представляло собой механическую обработку смесей в планетарной микромельнице. Далее все образцы анализировались на предмет образования новой фазы с использованием порошкового дифрактометра.

Заключительный этап включал в себя повторный термический анализ перемолотых образцов (в первом случае – просто физ.смесь, а во втором – после перемола).

2.2. Результаты скрининга

Полученные результаты скрининга представлены следующими графиками:

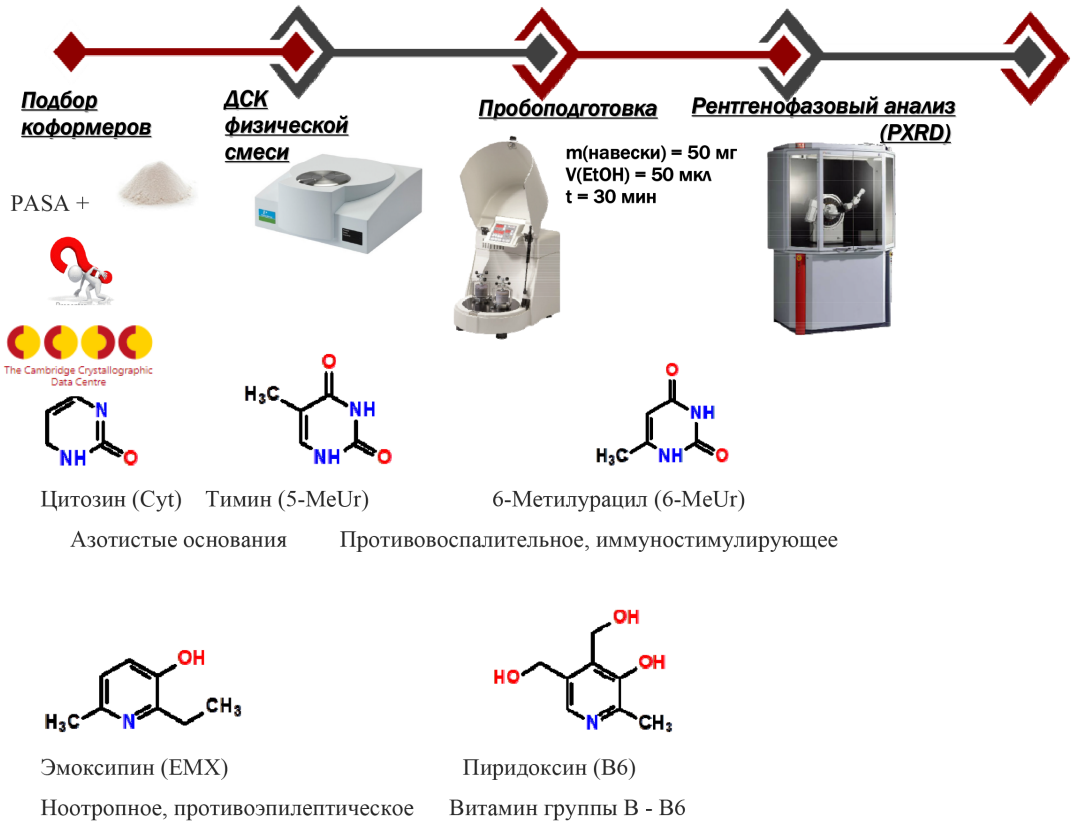
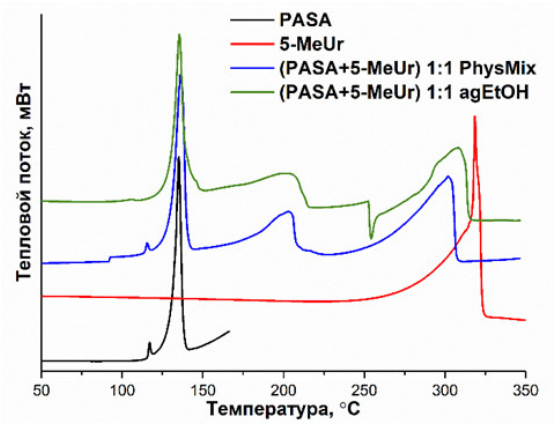
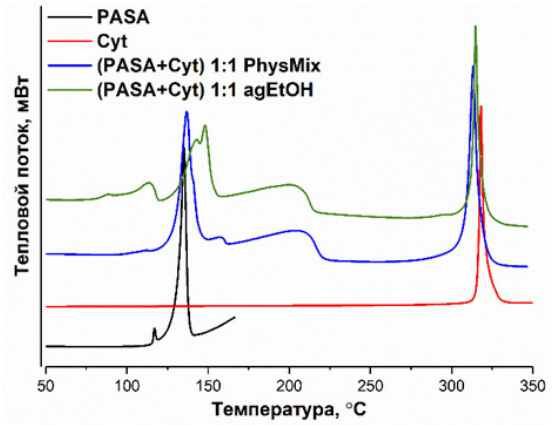
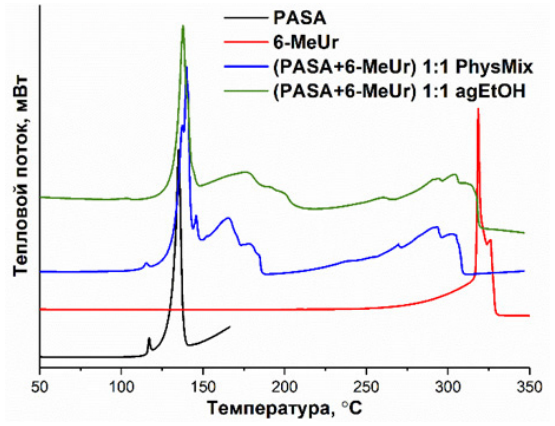
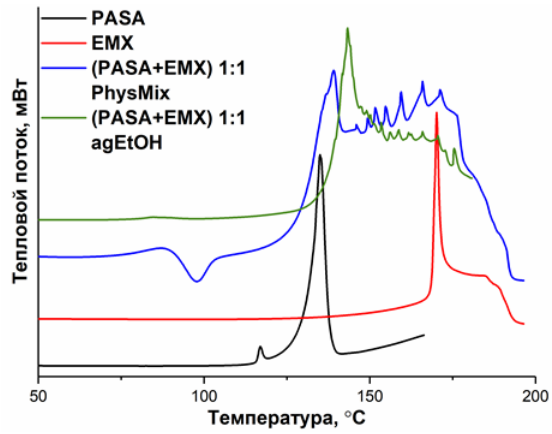


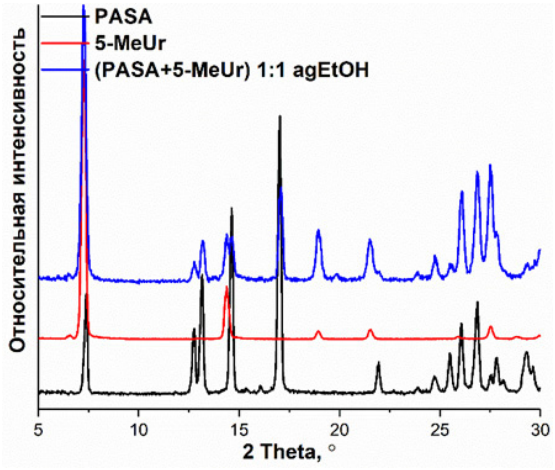
Рис. 4. Структурно-родственные коформеры

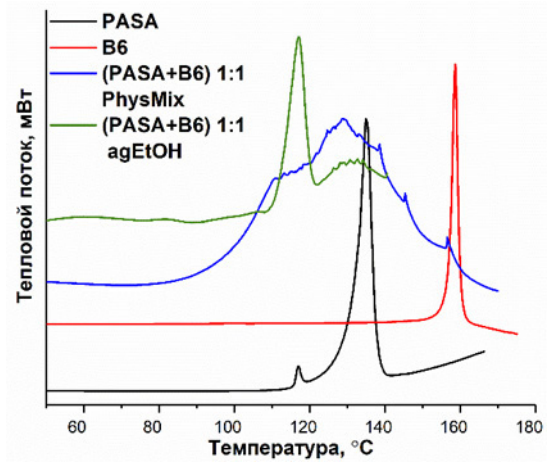






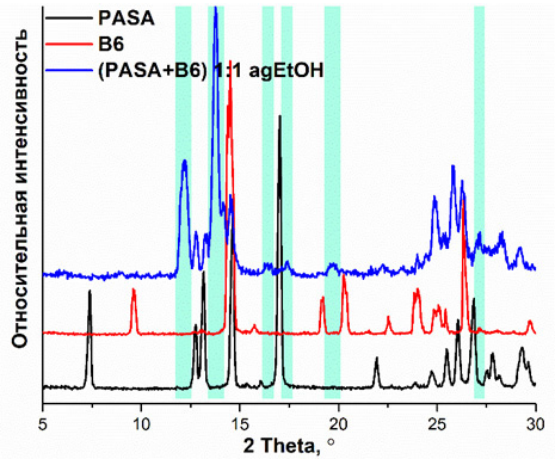


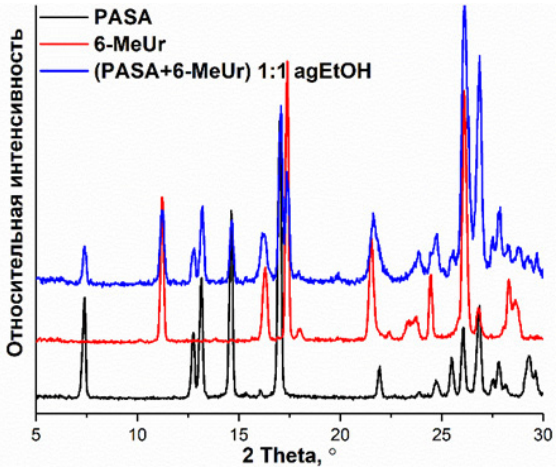


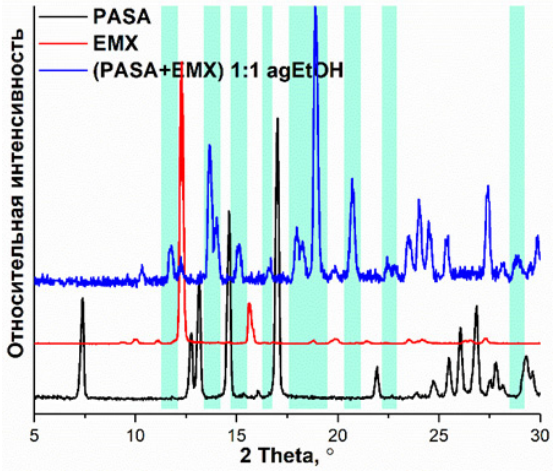


В результате проделанного скрининга образование новой фазы не подтвердилось для систем с 5– и 6–MeUr. На графиках, представленных сверху видно, что при плавлении как физ.смеси, так и смеси после перемола, на термограммах присутствуют только пики плавления, соответствующие плавлению индивидуальных веществ, что указывает на отсутствие образования сокристаллов между этими компонентами. Данный факт подтверждают и результаты рентгенофазового анализа, графики которых представлены ниже.

Сравнение дифрактограмм индивидуальных компонентов, отмеченных черным и красным цветом, с дифрактограммами физ.смеси после перемола показывает отсутствие каких-либо новых рефлексов, не соответствующих рефлексам индивидуальных компонентов.







Для остальных систем, а именно с цитозином, эмоксипином и пиридоксином, образование новых фаз было подтверждено обоями методами анализа. В случае с системой ПАСК с цитозином результаты рентгенофазового анализа показали, что на дифрактограмме соответствующей смеси помимо новых рефлексов, выделенных синим цветом, также в значительной степени присутствуют рефлексы, соответствующие индивидуальным компонентам. Это и результаты термического анализа свидетельствуют о том, что выбранная стехиометрия неверна и необходим дополнительный эксперимент по поиску верной стехиометрии. В случаях с эмоксипином и пиридоксином результаты рентгенофазового анализа показали, что в обоях системах образуется новая фаза. Новые и наиболее интенсивные рефлексы также выделены синим цветом. В случае с системой с эмоксипином об образовании новой фазы также говорит наличие экзотермического эффекта на термограмме физ.смеси, который исчезает при плавлении смеси после механической обработки. В случае с системой с пиридоксином по результатам плавления физ. смеси нельзя было предсказать о вероятности образования новой фазы в виду близких температур плавления индивидуальных компонентов.

Таким образом, в ходе проделанной работы для трех из пяти систем мы подтвердили образование новой кристаллической фазы, которая рекомендуется для дальнейшего исследования физико-химических свойств, таких как стабильность, растворимость и скорость растворе

Заключение

В проделанной работе был проведен скрининг многокомпонентных кристаллов 4–аминосалициловой кислоты. Для систем 4–аминосалициловой кислоты с цитозином, эмоксипином и пиридоксином подтверждено образование новой фазы

Для системы 4–аминосалициловой кислоты с цитозином необходимо провести дополнительный эксперимент для поиска правильной стехиометрии компонентов

Для систем 4–аминосалициловой кислоты с эмоксипином и пиридоксином получены уникальные температуры плавления новых фаз

Системы 4–аминосалициловой кислоты с пиридоксином и эмоксипином рекомендованы для дальнейшего исследования физико-химических свойств

Для скрининга новых сокристаллов 4–аминосалициловой кислоты были отобраны производные пиридина и пиримидина. Для оценки вероятности образования новой кристаллической фазы 4–аминосалициловой кислоты с коформером были использованы дифференциальная сканирующая калориметрия и рентгенофазовый анализ. В результате проделанного скрининга было подтверждено, что в трех из пяти исследуемых систем происходит образование новых фаз.

Сегодня все больше исследований направлено не на разработку новых лекарственных препаратов, так как это довольно длительный и дорогостоящий процесс, а на поиск способов повышения эффективности уже известных лекарственных средств. Одним из перспективных способов улучшения таких важных свойств для фармацевтики, как растворимость и проницаемость, является получение многокомпонентных кристаллов, а именно образование гидратов/сольватов, солеобразование и получение сокристаллов.

Список литературы

1. Архипов С.Г. Получение сокристаллов и солей аминокислот с органическими кислотами и сравнение их структуры и свойств со структурами и свойствами исходных компонентов. Новосибирск, 2015. – 175 с.

2. Досон Р. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс; пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 554 с.

3. Китайгородский А.И. Молекулярные кристаллы. – М.: Наука, 2014. – 424 с.

4. Коренева Л.Г. Нелинейная оптика молекулярных кристаллов. / Л.Г. Коренева, В.Ф. Золин, Б.Л. Давыдов. – М.: Наука, 2015. – 200 с.

5. URL: https://yandex.ru/turbo?text=http%3A%2F%2Fprivivku.ru%2Finfekcionnye-zabolevaniya%2Ftuberkulyoz.html&d=1.