

В. С. Одинцова, М. В. Авсейко

ИННОВАЦИОННЫЙ СПОСОБ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКОГО ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Н. Д. Яранцева

Кафедра фармацевтической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

V. S. Odintsova, M. V. Avsejko

INNOVATIVE METHOD OF CONFIRMING THE EFFICIENCY OF CHEMICAL DISCONTINUATION OF PHARMACEUTICAL WASTE

Tutor: associate professor N. D. Yarantseva

Department of Pharmaceutical Chemistry,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Статья посвящена обоснованию возможности применения спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния для контроля эффективности утилизации пришедших в негодность лекарственных средств способом химического обезвреживания. Экспериментально установлены структура, токсичность и способность к биоаккумуляции образующихся метаболитов.

Ключевые слова: гигантское комбинационное рассеяние, обезвреживание, фармакофор.

Resume. The article is devoted to substantiating the possibility of using Surface-enhanced Raman spectroscopy to control the efficiency of the disposal of drugs that have become unusable by the method of chemical neutralization. The structure, toxicity and ability to bioaccumulate the metabolites formed were experimentally established.

Keywords: Surface-enhanced Raman spectroscopy, neutralization, pharmacophore.

Актуальность. Проблемы загрязнения окружающей среды на сегодняшний день являются насущными и широко обсуждаемыми. Значительное развитие фармацевтической промышленности с одной стороны обеспечивает возможность профилактики и лечения заболеваний, с другой стороны актуальным становится вопрос утилизации фармацевтических отходов. На законодательном уровне закреплены следующие методы обезвреживания отходов: сжигание, захоронение, слив в канализацию, смешивание с бытовыми отходами. Однако они оказывают неблагоприятное влияние на окружающую среду [7]. Перспективным является химический способ утилизации, основанный на проведении простых реакций с применением доступных реактивов для разрушения фармакофора лекарственного средства или получения неактивного метаболита. Тем не менее, отсутствует детальная информация о структуре и экологической безопасности веществ, образующихся в ходе химического разрушения фармацевтических отходов [2].

Цель: обоснование возможности применения спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния для контроля эффективности утилизации пришедших в негодность лекарственных средств способом химического обезвреживания.

Задачи:

1. Провести инактивацию фармакофора лекарственного средства, используя доступные реактивы и несложные методики.
2. Снять поверхностно-усиленные спектры исходного и разрушенного ЛС.

3. Рассчитать токсичность и способность к аккумуляции в биологических системах полученного метаболита и исходного вещества для подтверждения уменьшения неблагоприятного влияния на окружающую среду.

Материал и методы. Суть химического метода обезвреживания ЛС заключается в установлении структуры вещества, отвечающей за проявление фармакологического эффекта (фармакофор); разрушении фармакофора широко доступными реактивами, простыми и быстрыми методиками; изучении неактивного метаболита вещества в случае затруднения деградации фармакофора и его получение.

Образцом для разработки метода химической деградации была выбрана субстанция диуретического лекарственного средства спиронолактона. Согласно экологической классификации, разработанной окружным советом по охране окружающей среды Стокгольма данное ЛС ввиду особенностей химической структуры имеет индекс РВТ=8, соответственно обладает высокой стойкостью (persistence), способностью к биоаккумуляции (bioaccumulation) и токсичностью (toxicity).

Фармакофором, обуславливающим диуретическое действие спиронолактона, является пятичленный ненасыщенный лактонный цикл и 7-ацетилтиозаместитель. Для получения неактивного метаболита использовалась реакция кислотного гидролиза (рисунок 1).

Методика: в колбу из термостабильного стекла помещали 100,0 мг субстанции спиронолактона, отвешенной на аналитических весах Ohaus EX124 добавляли 25,0 мл 0,1 М хлористоводородной кислоты и нагревали при 60 °С на электроплитке НР550-S в течение 10 мин [6].

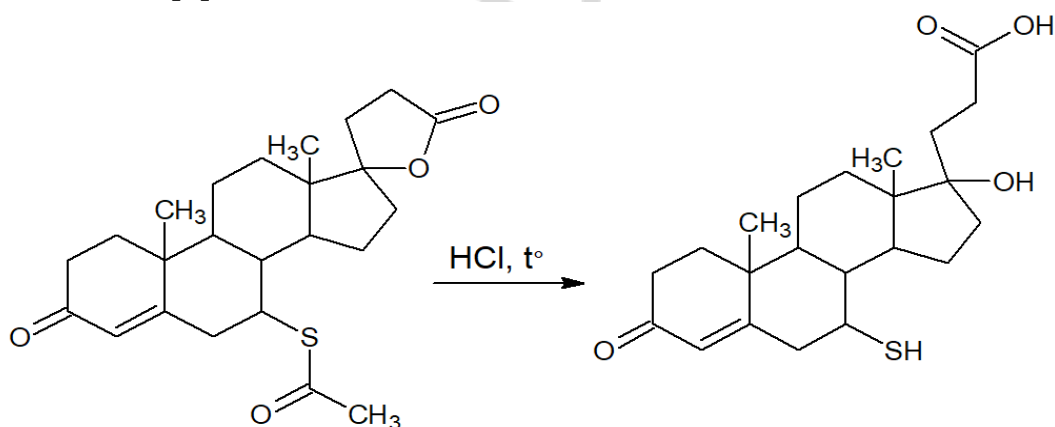


Рис. 1 – Инактивация фармакофора спиронолактона реакцией кислотного гидролиза

С целью установления структуры полученного продукта инактивации регистрировался спектр гигантского комбинационного рассеяния исходного и разрушенного образцов субстанции спиронолактона. В качестве ГКР-активных подложек применялись твёрдые подложки BelSERS, созданные в результате совместных исследований ученых Института физики Национальной академии наук и Белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники на основе наноструктур серебра и пористого кремния [5]. Покрытие пористого кремния серебром осуществлялось с помощью иммерсионного осаждения серебра из водного раствора нитрата серебра.

Методика: в 10,0 мл раствора продукта деградации спиронолактона, полученного в результате химической реакции, осуществляли вымачивание подложек BelSERS в течение 2 часов в чашке Петри, затем промывали их дистиллированной водой, высушивали на воздухе при комнатной температуре и осуществляли снятие спектра ГКР с помощью 3D-сканирующего конфокального рамановского люминесцентного микроскопа Confotec NR500 со спектрометром Nanofinder S. Контрольным образцом являлся водный раствор исходной субстанции спиронолактона, полученный растворением 10,0 мг субстанции в 50,0 мл воды очищенной.

При регистрации спектров ГКР использовалась длина волны возбуждающего лазерного излучения 473 нм, микрообъектив с увеличением 40х. Для построения графиков спектров по массиву точечных значений использовали компьютерную программу OriginPro 8.1.

Токсичность определялась на основании расчета полулетальной дозы (LD_{50}) для крыс при пероральном применении с использованием компьютерного моделирования GUSAR Rat acute toxicity [3].

Для оценки способности соединения к биоаккумуляции целесообразно установить его липофильность [1]. С использованием программы Molinspiration проводился расчет коэффициента распределения в системе октанол-вода ($\log P_{ow}$), позволяющий коррелировать липофильность соединений со способностью к аккумулярованию в биологических системах.

Результаты и их обсуждение. Положение максимумов характеристических групп фармакофора спиронолактона отмечается при 1675 см^{-1} и 660 см^{-1} . Пики при данных частотах регистрируются на спектре комбинационного рассеяния исходного образца субстанции спиронолактона (рисунок 2).

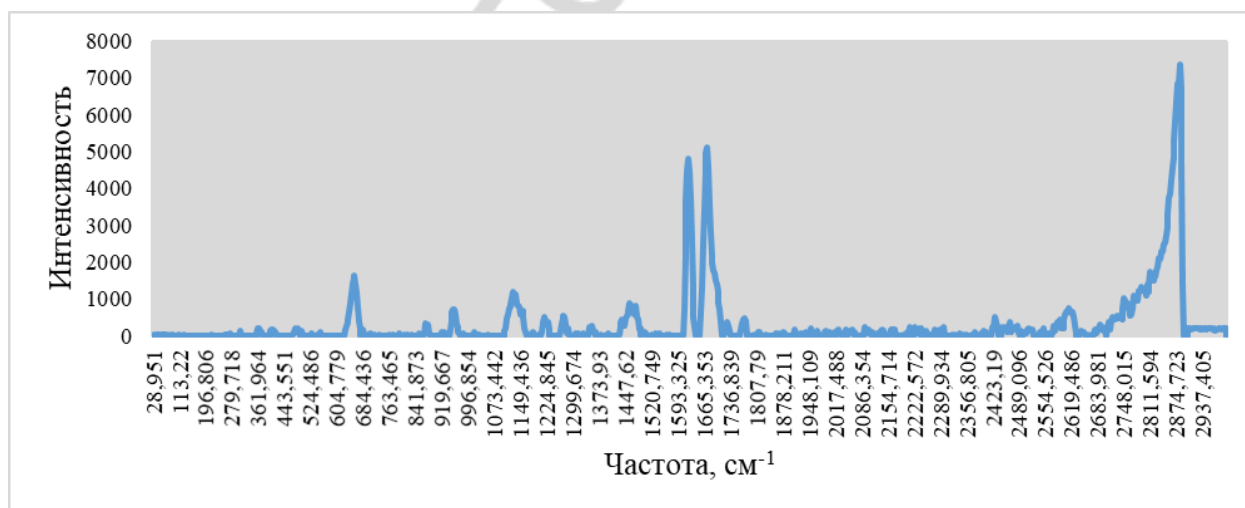


Рис. 2 – Поверхностно-усиленный рамановский спектр исходного образца субстанции спиронолактона

Рамановский спектр продукта инактивации спиронолактона характеризуется значительным уменьшением интенсивности пика на частоте 1675 см^{-1} и отсутствием при 660 см^{-1} (рисунок 3) [4].

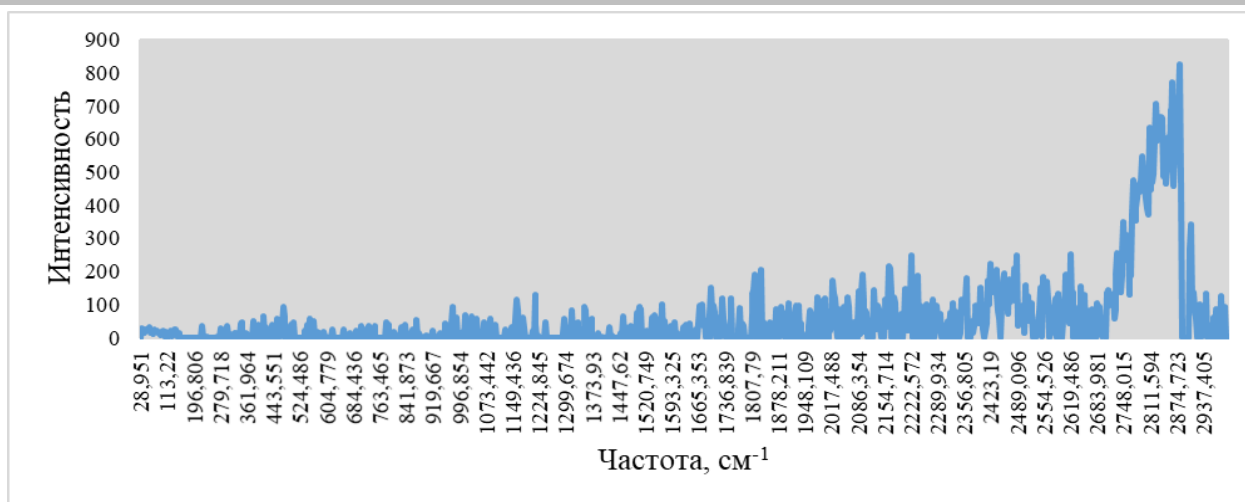


Рис. 3 – Спектр гигантского комбинационного рассеяния разрушенного образца субстанции спиронолактона

На приведённых спектрах ГКР отчётливо регистрируются пики, что позволяет точно определять наличие и (или) отсутствие определённых частей в химической структуре молекулы. Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния является инновационным, высокочувствительным методом идентификации соединений и позволяет подтвердить эффективность химического способа обезвреживания фармацевтических отходов.

Значения полулетальной дозы (LD_{50}) для крыс при пероральном применении и коэффициент распределения в системе октанол-вода ($\log P_{ow}$) спиронолактона (таблица 1).

Табл. 1. Показатели токсичности и способности к биоаккумуляции для спиронолактона и продукта его инактивации

Вещество	Rat Oral LD_{50}		$\log P_{ow}$
	$\log 10$ (ммоль/кг)	мг/кг	
Спиронолактон	0,543	1454,000	3,03
Продукт инактивации спиронолактона	0,605	1839,000	1,93

Анализируя данные, приведенные в таблице, необходимо отметить следующие закономерности: значение полулетальной дозы (LD_{50}) для продукта инактивации спиронолактона увеличивается по сравнению с исходной молекулой, коэффициент распределения в системе октанол-вода ($\log P_{ow}$) уменьшается. Это свидетельствует о снижении токсичности, липофильности и, как следствие, уменьшении способности к аккумуляции в биологических системах полученных метаболитов.

Выводы:

1 Проведённое исследование доказывает возможность применения спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния в качестве инновационного способа контроля эффективности химического способа утилизации непригодных лекарственных

ных средств. Достоинствами данного метода являются: универсальность, бесконтактность, отсутствие сложной пробоподготовки, детектирование вплоть до фемптомольных концентраций.

2 Актуальность использования химического обезвреживания ЛС обусловлена следующими причинами: образование прогнозируемых метаболитов, дешевизна и доступность используемых реактивов, простота методик утилизации.

3 Рассчитана токсичность и способность к биоаккумуляции прогнозируемого продукта деградации спиронолактона. Выявлена положительная тенденция к снижению данных показателей, свидетельствующая об увеличении экологической безопасности.

Литература

1. Андреева Е. П. Расчет липофильности органических соединений на основе структурного сходства и молекулярных физико-химических дескрипторов / Е. П. Андреева, О. А. Раевский // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 43. – №. 5. – С. 28-32.
2. Останина, Н. В. Проблемы, связанные с уничтожением некачественных лекарственных препаратов / Н. В. Останина, Е. И. Кузнецова, Н. Н. Очеретянная // Сотрудничество для решения проблем с отходами: тез. докл. конф. с междунар. участием. – Х., 2009. – С. 221-229.
3. Раевский, О. А. QSAR моделирование острой оральной токсичности млекопитающих / О. А. Раевский, В. Ю. Григорьев, А. В. Ярков и др. // Biomedical Chemistry: Research and Methods. – 2018. – Vol. 1. – №. 3. – P. 1-3.
4. Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts / G. Socrates. – England: John Wiley & Sons Ltd, 2001. – 362 p.
5. Progress in the development of SERS-active substrates based on metal-coated porous silicon / H. V. Bandarenka, K. V. Girel, S. A. Savatski et al. // Materials – 2018. – Vol. 11. – №. 5. – P. 852.
6. Spironolactone-related inhibitors of type II 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase: chemical synthesis, receptor binding affinities, and proliferative/antiproliferative activities / M. Tremblay, V. Luu-The, G. Leblanc et al. // Bioorganic & medicinal chemistry. – 1999. – Vol. 7. – №. 6. – P. 1013-1023.
7. Thomas, F. Фармацевтические отходы в окружающей среде: взгляд с позиций культуры / F. Thomas // Панорама общественного здравоохранения. – 2017. – №1. – С. 133-139.