

ФРАКТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ ФОРМ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

Р.П. Терехов

студент, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет);

Институт клеточной терапии и иммунологии им. Фраунгофера (Лейпциг, Германия)

E-mail: r.p.terekhov@yandex.ru

И.А. Селиванова

д.фарм.н., профессор, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

E-mail: irinaselivanova@yandex.ru

В процессе фрактального анализа микрофотографий лиофилизатов дигидрокверцетина выявлена зависимость между структурой твердой фазы и ее растворимостью. Полученные результаты могут найти применение в промышленности для экспресс-анализа фармацевтических субстанций без потери вещества.

Ключевые слова: дигидрокверцетин (таксифолин), фрактальный анализ, лиофилизированные формы, растворимость в воде.

Для цитирования: Терехов Р.П., Селиванова И.А. Фрактальный анализ лиофилизированных форм дигидрокверцетина. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(3):17–21. DOI: 10.29296/25877313-2018-03-03

Фрактальная геометрия позволяет объяснить многие явления природы, такие как формирование ленгмюровских монослоев [1], эволюцию белков [2] и др. Фрактальный анализ уже нашел применение в мониторинговании обжарки кофейных зерен [3] и контроле сыпучести порошков [4].

В последнее время большое внимание исследователей уделяется дигидрокверцетину (ДКВ). Дигидрокверцетин – 2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4H-1-бензопиранон-4, известный также как таксифолин, является мажорным флавоноидом древесины лиственницы даурской (*Larix daurica* Turcz.). Это соединение обладает широким спектром фармакологической активности в сочетании с приемлемым профилем безопасности [5]. На базе ДКВ разработано несколько лекарственных препаратов (диквертин, асковертин) [6]. Коммерчески доступная фармацевтическая субстанция ДКВ характеризуется малой растворимостью и низкой биодоступностью. Это обстоятельство ограничивает применение ДКВ в клинической практике. Для повышения растворимости в ходе данного исследования использовали лиофилизацию ДКВ с различными коформерами.

Цель исследования – оценить возможность использования фрактальной геометрии в экспресс-анализе растворимости в воде различных лиофилизированных форм ДКВ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила фармацевтическая субстанция ДКВ (ООО «Аметис, Россия) – ФС-000388-270812. Маточный раствор готовили растворением ДКВ в этаноле денатурированном (99,8%, «Carl Roth GmbH», Германия). Использовали следующие коформеры: никотиновая кислота (99,5%, «Fluka», Германия), ванилин (99%, «Sigma-Aldrich Chemie GmbH», Германия), коричный альдегид (99%, «Acros Organics», Бельгия), бензальдегид (98+%, «Acros Organics», Бельгия), мочевины (99,6%, «Carl Roth GmbH», Германия), хлороводородная кислота (37%, «Carl Roth GmbH», Германия) и натрия гидроксид (99%, «Carl Roth GmbH», Германия). Молярное соотношение коформеров и ДКВ составляло 1:1. Полученные растворы были разбавлены водой до 5%-ного содержания ДКВ по массе. Для предотвращения потери этанола сразу после приготовления водно-спиртовых растворов их выдерживали при температуре –78 °С в течение 24 ч. После этого колбы с образцами присоединяли к лабораторной лиофильной сушке Alpha 1-2 LD («Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH», Германия), создающей давление 0,35 атм и температуру –55 °С, и выдерживали 36 ч. Лиофилизированные формы ДКВ получали в трехкратной повторности.

Для контроля химического состава образцов использовали масс-спектрометр ExpressionL CMS («Advion», США).

Визуализацию микроструктуры лиофилизатов осуществляли с помощью инверторного микроскопа Axiovert S 100 с микрокамерой AxioCam MRC («Zeiss AG», Германия) при увеличении в 400 раз.

Фрактальный анализ микрофотографий проводили в программе FDim (Laboratory for Computational Longitudinal Neuroimaging, Harvard Medical School, США) [7]. Фрактальную размерность образцов измеряли в пятикратной повторности.

Растворимость в воде ДКВ и его лиофилизированных форм с коформерами испытывали в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации XIII издания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Новые формы ДКВ получали путем сочетания кокристаллизации и лиофилизации. Согласно дизайну исследования, изучали две выборки образцов: обучающую и контрольную. Данные масс-спектрометрии не выявили химического взаимодействия между компонентами лиофилизатов. Все

лиофилизированные формы ДКВ обладали лучшей растворимостью в воде по сравнению с исходной субстанцией, но степень улучшения была различна (табл. 1).

При микроскопическом анализе в геометрии лиофилизатов выявлена тенденция к формированию характерных структурных элементов: равнобедренных треугольников с углами у основания в 66,18 и 76,03°, обладающих статистическим самоподобием. Отличие между структурами заключается, главным образом, в их фрактальной геометрии (рис. 1).

Фрактальная размерность (D_c) вычислена для каждого характерного структурного элемента по алгоритму, интегрированному в программе FDim, по формуле

$$D_c = \lim_{\lambda \rightarrow \infty} \frac{-\log N(\lambda)}{\log \lambda},$$

где N – число элементов в окне; λ – размер этих элементов.

Таблица 1. Растворимость ДКВ и его лиофилизированных форм

Образец	Растворимость в терминах ГФ РФ XIII	Диапазон растворимости, г/мл
Исходная субстанция ДКВ	Очень мало растворим	0,0001 – 0,001
ДКВ с бензальдегидом	Умеренно растворим	0,01 – 0,03
ДКВ с никотиновой кислотой	Умеренно растворим	0,01 – 0,03
ДКВ с коричневым альдегидом	Растворим	0,03 – 0,10
ДКВ без коформеров	Растворим	0,03 – 0,10
ДКВ с ванилином	Хорошо растворим	0,10 – 1,00
ДКВ с мочевиной	Очень хорошо растворим	>1,00

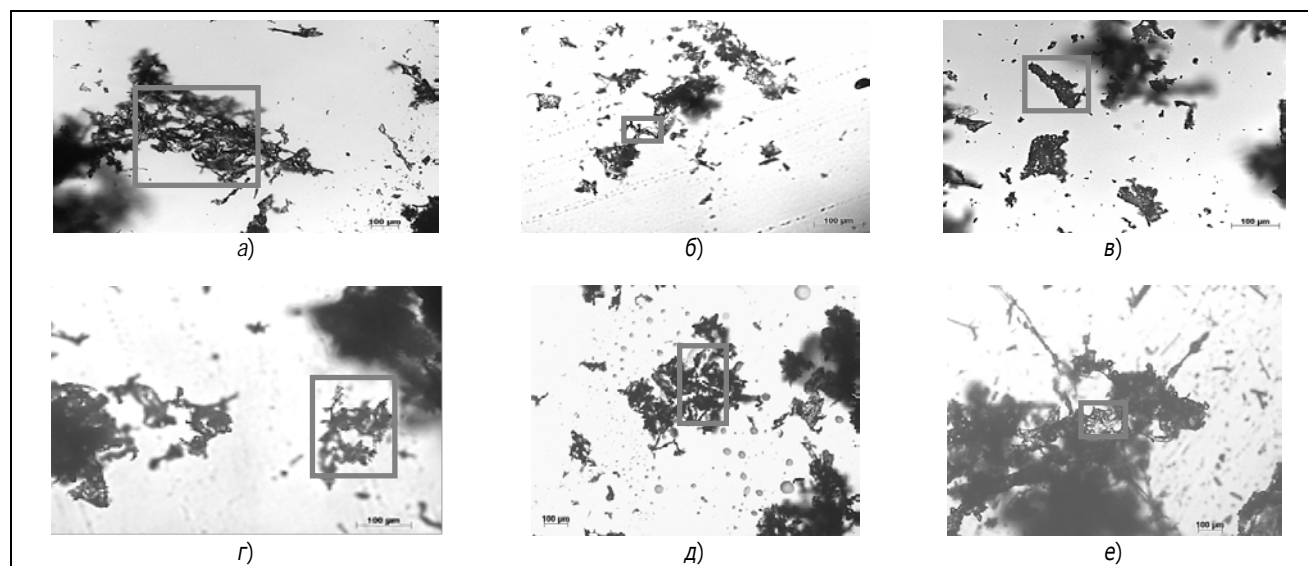


Рис. 1. Репрезентативные микрофотографии образцов обучающей выборки: а – ДКВ без коформера; б – ДКВ с ванилином; в – ДКВ с никотиновой кислотой; г – ДКВ с бензальдегидом; д – ДКВ с коричневым альдегидом; е – ДКВ с мочевиной (прямоугольником отмечены области, пригодные для фрактального анализа)

Таблица 2. Фрактальная размерность и метрологические характеристики образцов обучающей выборки

Образец	Dc			Метрологические характеристики			
	Серия 1	Серия 2	Серия 3	X	S ²	S	ε, %
ДКВ с бензальдегидом	2,30	2,22	2,24	2,26	0,0017	0,04	1,77
	2,30	2,28	2,22				
	2,32	2,25	2,32				
	2,24	2,21	2,21				
	2,22	2,31	2,26				
ДКВ с никотиновой кислотой	2,40	2,63	2,29	2,36	0,0121	0,11	4,66
	2,35	2,26	2,41				
	2,37	2,55	2,37				
	2,29	2,40	2,25				
	2,22	2,37	2,31				
ДКВ с коричневым альдегидом	2,40	2,40	2,62	2,41	0,0064	0,08	3,32
	2,42	2,41	2,50				
	2,42	2,31	2,41				
	2,38	2,30	2,42				
	2,45	2,38	2,30				
ДКВ без коформера	2,48	2,42	2,46	2,44	0,0004	0,02	0,82
	2,42	2,44	2,45				
	2,43	2,44	2,42				
	2,42	2,43	2,40				
	2,46	2,44	2,44				
ДКВ с ванилином	2,59	2,53	2,49	2,55	0,0013	0,04	1,57
	2,52	2,54	2,50				
	2,55	2,56	2,51				
	2,59	2,58	2,52				
	2,59	2,58	2,59				
ДКВ с мочевиной	2,59	2,55	2,58	2,58	0,0003	0,02	0,78
	2,59	2,54	2,57				
	2,59	2,60	2,58				
	2,60	2,59	2,59				
	2,60	2,60	2,57				

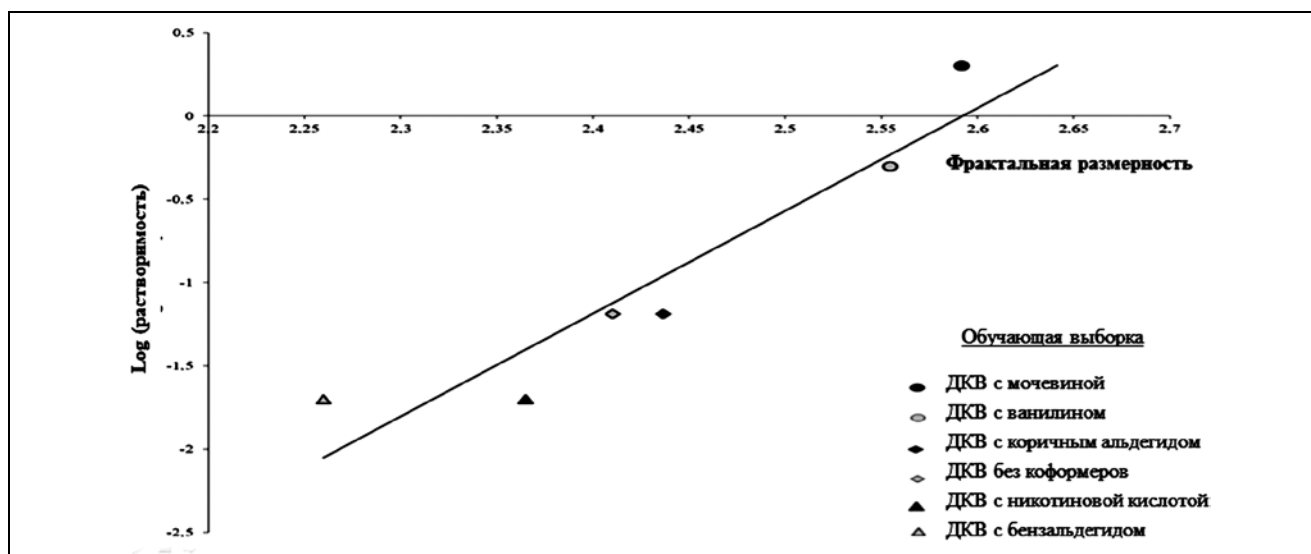


Рис. 2. Логарифмическая зависимость растворимости в воде лиофилизированных форм ДКВ и фрактальной размерности их характерных структурных элементов

Среднее значение фрактальной размерности для каждого образца обучающей выборки получено в результате математической обработки данных (см. табл. 2). Относительная погрешность измерений не превышала 5%, что является допустимым отклонением в условиях фармацевтического анализа.

Между растворимостью лиофилизированных форм ДКВ и фрактальной размерностью их характерных структурных элементов обнаружена логарифмическая зависимость (см. рис. 2). Коэффициент корреляции составил 0,89. Подобная взаимосвязь может быть объяснена физическим смыслом фрактальной размерности, повышение которой означает увеличение площади взаимодействия вещества с растворителем. С точки зрения геомет-

рии поверхность субстанции переходит в промежуточное состояние между 2D- и 3D-объектами. Поскольку процесс растворения зависит от площади поверхности субстанции, представляется перспективным использование фрактальной размерности для экспресс-анализа растворимости и, следовательно, контроля качества фармацевтических субстанций по этому показателю.

Чтобы оценить возможность применения фрактального анализа для определения растворимости субстанций использовали контрольную выборку лиофилизированных форм ДКВ с натрия гидроксидом и хлороводородной кислотой (рис. 3).

Среднее значение фрактальной размерности для каждого образца контрольной выборки получено математической обработкой данных (табл. 3).

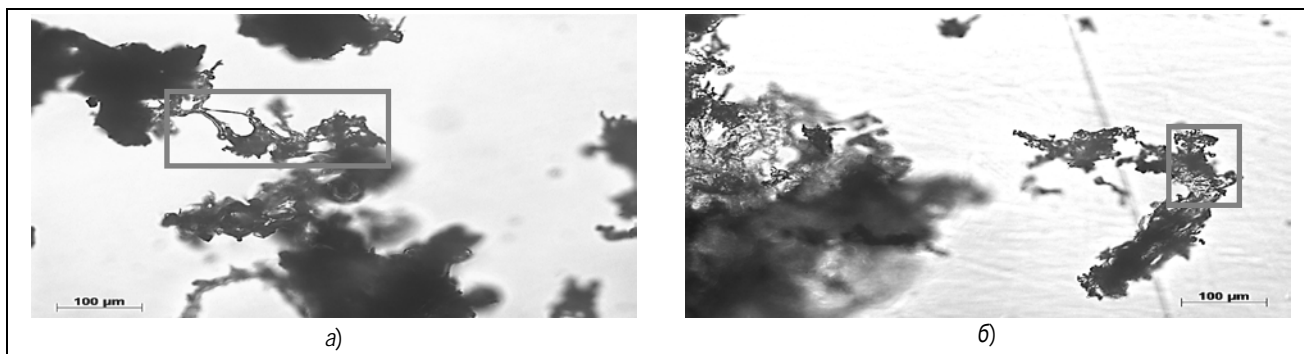


Рис. 3. Репрезентативные микрофотографии образцов контрольной выборки: а – ДКВ с хлороводородной кислотой; б – ДКВ с натрия гидроксидом (прямоугольником отмечены области, пригодные для фрактального анализа)

Таблица 3. Фрактальная размерность и метрологические характеристики образцов контрольной выборки

Образец	Dc			Метрологические характеристики			
	Серия 1	Серия 2	Серия 3	X	S ²	S	ε, %
ДКВ с хлороводородной кислотой	2,28	2,24	2,30	2,28	0,0016	0,04	1,75
	2,31	2,28	2,33				
	2,33	2,31	2,34				
	2,27	2,25	2,23				
	2,27	2,27	2,20				
ДКВ с натрия гидроксидом	2,54	2,50	2,49	2,52	0,0011	0,03	1,19
	2,56	2,50	2,50				
	2,58	2,52	2,52				
	2,50	2,54	2,46				
	2,49	2,57	2,51				

Таблица 4. Сравнение расчетных и экспериментальных данных по растворимости образцов контрольной выборки

Образец	Расчетные данные		Экспериментальные данные	
	Dc	Растворимость, г/мл	Растворимость в терминах ГФ XIII	Диапазон растворимости, г/мл
ДКВ с хлороводородной кислотой	2,28	0,012	Умеренно растворим	0,01–0,03
ДКВ с натрия гидроксидом	2,52	0,359	Хорошо растворим	0,10–1,00

Растворимость образцов контрольной выборки была рассчитана теоретически по величине фрактальной размерности, а затем подтверждена экспериментально (см. табл. 4). Данные фрактального анализа и прямого метода определения растворимости в воде совпали. Таким образом, экспериментальные данные подтвердили результат теоретического расчета.

ВЫВОДЫ

1. Получены новые формы ДКВ с повышенной растворимостью путем лиофилизации с различными коформерами.
2. Установлена логарифмическая зависимость между растворимостью лиофилизированных форм ДКВ и фрактальной размерностью их характерных структурных элементов.
3. Продемонстрирована возможность использования фрактальной размерности в экспресс-анализе лиофилизированных форм ДКВ по показателю растворимости.
4. Показана перспективность применения фрактального анализа для фармацевтической индустрии как метода, позволяющего автоматизировать мониторинг качества фармацевтической субстанции без потери вещества.

Авторы исследования выражают благодарность Почетному заведующему кафедрой Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Н.А. Тюкавкиной за конструктивные предложения.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Basak U.K., Datta A. Fractal dimension and complexity in the long-term dynamics of a monomolecular layer // *Chaos Soliton Fractals*. 2015. № 81. P. 534–541.
2. Peng X., Qi W., Su R. et al. Describing some characters of serine proteinase using fractal analysis // *Chaos Soliton Fractals*. 2012. V. 45, № 7. P. 1017–1023.
3. Gabriel-Guzmán M., Rivera V.M., Cocotle-Ronzón Y. et al. Fractality in coffee bean surface for roasting process // *Chaos Soliton Fractals*. 2017. № 99. P. 79–84.
4. Hurýchová H., Kuentz M., Šklubalová Z. Fractal aspects of static and dynamic flow properties of pharmaceutical excipients // *J. Pharm. Innov.* 2017. <https://doi.org/10.1007/s12247-017-9302-0>.
5. Schauss A.G., Tselyco S.S., Kuznetsova V.A. et al. Toxicological and genotoxicity assessment of a dihydroquercetin-rich Dahurian Larch tree (*Larix gmelinii* Rupr) extract (Lavitol) // *Int. J. Toxicol.* 2015. V. 34. № 2. P. 162–181.
6. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе дигидрокверцетина // Томск: Томский университет. 2005. 228 с. (Plotnikov M.B., Tjukavkina N.A., Plotnikova T.M. Lekarstvennye preparaty na osnove digidrokvercetina // Tomsk: Tomskij universitet. 2005. 228 s. [In Russ.]).
7. Reuter M. FDim – Fractal Dimension. [software]. Режим доступа: <http://reuter.mit.edu/software/fdim/> (дата обращения 22 марта 2017) (Reuter M. FDim – Fractal Dimension. [software]. Rezhim dostupa: <http://reuter.mit.edu/software/fdim/> (data obrashhenija 22 marta 2017)).

Поступила 30 января 2018 г.

THE FRACTAL ANALYSIS OF DIHYDROQUERCETIN OF THE LYOPHILIZED FORMS

© R.P. Terekhov, I.A. Selivanova, 2018

R.P. Terekhov

Student, Sechenov University (Moscow); Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology IZI (Leipzig, Germany)

E-mail: r.p.terekhov@yandex.ru

I.A. Selivanova

Dr. Sc. (Pharm.), Professor, Sechenov University (Moscow)

E-mail: irinaselivanova@yandex.ru

Dihydroquercetin (DHQ) - 2,3-dihydro-3,5,7-trihydroxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-4H-1-benzopyranone-4, also known as taxifolin is the major flavonoid of the larch wood with a wide range of pharmacological activities which is combined with the absence of embryotoxicity, teratogenicity and mutability. However, industrially isolated DHQ is slightly soluble in water at room temperature and therefore has a limited bioavailability. This circumstance restricts the clinical use of dihydroquercetin. In this study the lyophilization with different co-formers (vanillin, cinnamaldehyde, benzaldehyde, urea, and nicotinic acid) was used to improve the water-solubility of DHQ. The logarithmic correlation between fractal dimensions of solid structures and solubility of DHQ lyophilisats was established during the fractal analysis of photomicrographs by using of FDim software. The correlation coefficient was 0.89. The Relative standard deviation was not more than 1.75%. These results showed that fractal analysis can be used in the pharmaceutical industry as a promising method for rapid, automatic monitoring of quality control of pharmaceutical active ingredients without any substances loss.

Key words: dihydroquercetin (taxifolin), fractal analysis, lyophilized form, solubility in water.

For citation: Terekhov R.P., Selivanova I.A. The fractal analysis of dihydroquercetin of the lyophilized forms. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2018; 21(2): 17–21. DOI: 10.29296/25877313-2018-03-03