

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-125-133>
УДК 615.072



Оригинальная статья / Research article

Стандартизация фармсубстанции литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-*l*-гулоновой кислоты как радиосенсибилизирующего агента

М. С. Третьякова¹, С. В. Кривошеков², Е. В. Плотников^{1,3}✉, Е. В. Дорошко¹,
О. А. Воронова¹, М. С. Ларькина^{1,2}, К. С. Бразовский^{1,2}, М. В. Белоусов^{1,2}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет». 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, д. 30

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

³ НИИ психического здоровья. Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томский НИМЦ), 634014, Россия, г. Томск, ул. Алеутская, д. 4

✉ Контактное лицо: Плотников Евгений Владимирович. E-mail: plotnikovev@tpu.ru

ORCID: М. С. Третьякова – <https://orcid.org/0000-0002-5040-931X>; С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;

Е. В. Плотников – <https://orcid.org/0000-0002-4374-6422>; Е. В. Дорошко – <https://orcid.org/0000-0002-8574-0045>;

О. А. Воронова – <https://orcid.org/0000-0001-6760-7796>; М. С. Ларькина – <https://orcid.org/0000-0003-1176-2441>;

К. С. Бразовский – <https://orcid.org/0000-0002-4779-9820>; М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Статья поступила: 11.07.2023

Статья принята в печать: 16.08.2023

Статья опубликована: 25.08.2023

Резюме

Введение. Установлено, что в сочетании с лучевым воздействием высокие дозы солей лития оказывают угнетающее действие на опухолевые лейкозные клетки. Подбор соответствующего анионного компонента позволяют получить выраженные радиосенсибилизирующие свойства. Литиевая соль гамма-лактон 2,3-дегидро-*l*-гулоновой кислоты рассматривается как имеющая хороший химический и биологический потенциал для создания радиосенсибилизирующих препаратов. Было установлено, что данное соединение проявляет высокую антиоксидантную активность среди других солей лития, при этом проявляет выраженный радиосенсибилизирующий эффект. Данное радиосенсибилизирующее действие является дозозависимым и проявляется в высоких концентрациях в сочетании с фотонным или нейтронным облучением. Потенциальное противоопухолевое действие, вследствие радиосенсибилизации, реализуется через индукцию окислительного стресса, что предполагает, в первую очередь, усиление цитотоксического воздействия на быстро пролиферирующие клетки – опухолевые. Полученные результаты создают необходимую основу для создания препаратов с радиосенсибилизирующей активностью.

Цель. Провести аналитическую оценку содержания активной субстанции и установить основные показатели качества субстанции, регламентируемые Государственной фармакопеей РФ.

Материалы и методы. В ходе исследования определены параметры: растворимость, подлинность, температура плавления, показатель преломления, удельное вращение, прозрачность и цветность раствора, pH раствора, сульфатная зола, тяжелые металлы, посторонние примеси, вода и несколько других параметров.

Результаты и обсуждение. Разработан проект спецификации на фармацевтическую субстанцию литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-*l*-гулоновой кислоты. Определены оптимальные параметры контроля состава и физико-химических характеристик и количественного определения фармацевтической субстанции, что является основной задачей для создания нового радиосенсибилизатора. Проведенные исследования дают полную характеристику фармсубстанции и устанавливают основные показатели качества ФС, что создает необходимую базу для создания лекарственной формы и изучения свойств *in vivo* для разработки лекарственного препарата с радиосенсибилизирующим действием.

Заключение. В ходе работы синтезированы опытные образцы литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-*l*-гулоновой кислоты и проведена ее стандартизация в качестве фармацевтической субстанции в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ.

Ключевые слова: литиевая соль гамма-лактон 2,3-дегидро-*l*-гулоновой кислоты, стандартизация, фармацевтическая субстанция, радиосенсибилизатор

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. М. В. Белоусов, Е. В. Плотников – составление плана исследований, общее руководство и постановка задач, обсуждение результатов, написание статьи. М. С. Третьякова, К. С. Бразовский, М. С. Ларькина, С. В. Кривошеков – проводили химический синтез, стандартизацию препарата. Е. В. Дорошко и О. А. Воронова – выполнили расчеты доз и отработали методику количественного определения. Все авторы участвовали в дискуссии результатов и составлении манускрипта.

Для цитирования: Третьякова М.С., Кривошеков С.В., Плотников Е.В., Дорошко Е.В., Воронова О.А., Ларькина М.С., Бразовский К.С., Белоусов М.В. Стандартизация фармсубстанции литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-*l*-гулоновой кислоты как радиосенсибилизирующего агента. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(3):125–133. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-125-133>

© Третьякова М.С., Кривошеков С.В., Плотников Е.В., Дорошко Е.В., Воронова О.А., Ларькина М.С., Бразовский К.С., Белоусов М.В., 2023

© Tretyakova M. S., Krivoshchekov S. V., Plotnikov E. V., Dorozhko E. V., Voronova O. A., Larkina M. S., Brazovskiy K. S., Belousov M. V., 2023

Standardization of the Pharmaceutical Substance of Lithium Salt Gamma-lactone of 2,3-dehydro-L-gulonic Acid as a Radio-sensitizing Agent

Maria S. Tretyakova¹, Sergei V. Krivoshchekov², Evgenii V. Plotnikov^{1,3}✉, Elena V. Dorozhko¹, Olesya A. Voronova¹, Maria S. Larkina^{1,2}, Konstantin S. Brazovskiy¹, Mikhail V. Belousov^{1,2}

¹ National Research Tomsk Polytechnic University, 30, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russia

² Siberian State Medical University, SSMU, 2, Moscow tract, Tomsk, 634050, Russia

³ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 4, Aleutskaya str., Tomsk, 634014, Russia

✉ Corresponding author: Evgenii Plotnikov. E-mail: plotnikovev@tpu.ru

ORCID: Maria Tretyakova – <https://orcid.org/0000-0002-5040-931X>; Sergei Krivoshchekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;

Evgenii Plotnikov – <https://orcid.org/0000-0002-4374-6422>; Elena Dorozhko – <https://orcid.org/0000-0002-8574-0045>;

Olesya Voronova – <https://orcid.org/0000-0001-6760-7796>; Maria Larkina – <https://orcid.org/0000-0003-1176-2441>;

Konstantin Brazovskiy – <https://orcid.org/0000-0002-4779-9820>; Mikhail Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Received: 11.07.2023

Revised: 16.08.2023

Published: 25.08.2023

Abstract

Introduction. It was found that in combination with radiation exposure, high doses of lithium salts have a depressing effect on tumor leukemia cells. The selection of the appropriate anionic component makes it possible to obtain pronounced radiosensitizing properties. The lithium salt of gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid is a promising compound for the creation of radiosensitizing drugs. It was found that this compound exhibits high antioxidant activity among other lithium salts, while showing a pronounced radiosensitizing effect. This radiosensitizing effect is dose-dependent and manifests itself in high concentrations in combination with photon or neutron irradiation. The potential antitumor effect, due to radiosensitization, is realized through the induction of oxidative stress, which implies, first of all, an increase in cytotoxic effects on rapidly proliferating tumor cells. The obtained results provide the necessary basis for the creation of drugs with radiosensitizing activity.

Aim. The aim of this work is to conduct an analytical assessment of the content of the active substance and establish the main indicators of the quality of the substance, regulated by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Materials and methods. During the study, the following parameters were determined: solubility, authenticity, melting point, refractive index, specific rotation, transparency of the solution, color of the solution, pH of the solution, sulfate ash, heavy metals, impurities, water content, residual organic solvents, microbiological purity and a number of others.

Results and discussion. A draft specification for the pharmaceutical substance of the lithium salt gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid has been developed. The optimal parameters for the control of the composition and physico-chemical characteristics and quantitative determination of the pharmaceutical substance have been determined, which is the main task for the pharmaceutical development of the drug. The results obtained make it possible to conduct a comprehensive characterization of the FS and evaluate the quality parameters of the product, which creates the basis for obtaining a dosage form and further studying the properties for creating a drug with a radiosensitizing effect.

Conclusion. In the course of the work, experimental samples of the lithium salt gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid were synthesized and its standardization as a pharmaceutical substance was carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Keywords: lithium salt of gamma-lactone 2,3-dehydro-L-gulonic acid, standardization, pharmaceutical substance, radiosensitizer

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Mikhail V. Belousov, Evgenii V. Plotnikov – drawing up a research plan, general guidance and formulation of tasks, discussion of results, writing an article. Maria S. Tretyakova, Konstantin S. Brazovsky, Maria S. Larkina, Sergei V. Krivoshchekov – carried out chemical synthesis, standardization of the drug. Elena V. Dorozhko and Olesya A. Voronova – performed dose calculations and worked out the method of quantitative determination. All authors took part in the discussion of the results and the preparation of the manuscript.

For citation: Tretyakova M. S., Krivoshchekov S. V., Plotnikov E. V., Dorozhko E. V., Voronova O. A., Larkina M. S., Brazovskiy K. S., Belousov M. V. Standardization of the pharmaceutical substance of lithium salt gamma-lactone of 2,3-dehydro-L-gulonic acid as a radio-sensitizing agent. *Drug development & registration*. 2023;12(3):125–133. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-125-133>

ВВЕДЕНИЕ

Основным применением препаратов лития в медицине является терапия биполярного расстройства [1]. В последние годы появилось много исследований, подтверждающих наличие у солей лития широкого спектра биологической активности и возможности их применения в других сферах, в том числе как антиоксидантов, иммуномодуляторов и др. [2–5].

В наших предыдущих исследованиях показано высокое радиосенсибилизирующее действие некото-

рых солей лития в сочетании с лучевым воздействием [6]. Соли лития обладают способностью стимулировать гемопоэз, что особенно важно при восстановлении после лучевой терапии при онкологических заболеваниях, при этом стабилизируя психоэмоциональный фон пациента [7]. Установлено, что в сочетании с лучевым воздействием высокие дозы аскорбата лития оказывают угнетающее действие на опухолевые лейкозные клетки и нормальные мононуклеарные клетки крови [8]. Важно отметить, что это вещество продемонстрировало наибольшую относительную антиоксидантную активность среди других

солей лития [2]. Было установлено, что наблюдаемый радиосенсибилизирующий эффект является дозозависимым и проявляется в высоких концентрациях, превышающих физиологические концентрации в 5–10 раз. В этом случае антиоксидантное соединение проявляет про-оксидантный эффект. Ранее этот эффект доказан для аскорбиновой кислоты [9, 10]. В физиологических концентрациях аскорбаты оказывают противовоспалительное действие и могут проявлять антикоагуляционный, антигиперлипидемический эффекты, однако, потенциальное противоопухолевое действие реализуется через индукцию окислительного стресса, что предполагает в первую очередь усиление цитотоксического воздействия на быстро пролиферирующие клетки, а в отдельных исследованиях определенные позитивные эффекты показаны в терапии онкобольных [11]. Полученные результаты создают необходимую основу для создания препаратов с радиосенсибилизирующей активностью.

В данной работе проведены исследования по стандартизации и разработке параметров качества для фармацевтической субстанции литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты для использования в качестве препарата радиосенсибилизатора.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для синтеза объекта исследования использовали гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновую кислоту (аскорбиновую кислоту) (ООО «ХИМСНАБ-СПБ», Россия) и карбонат лития (ACS, Sigma-Aldrich, Германия). Реакцию получения соли проводили при нагревании до 40 °C в деионизированной воде при перемешивании. Продукт реакции промывали изопропанолом, затем сушили. Выход продукта составлял 80 % от те-

оретического. При определении параметров качества использовали 6 лабораторных серий вещества. В качестве образца сравнения для спектральных методов анализа использовали стандартный образец предприятия (ЦВТ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты (СО-ЦВТ-006-01-2023), аттестованного в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы» ГФ РФ.

В соответствии с правилами, установленными Государственной фармакопеей РФ (ГФ РФ), устанавливается ряд параметров для характеристики ФС, в том числе количественное определение, родственные примеси, подлинность, прозрачность раствора, тяжелые металлы и другие [12].

В ходе исследования определено с помощью визуального метода, что фармацевтическая субстанция (ФС) на основе литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты представляет собой белый порошок без запаха.

В ходе работы выявлено, что субстанция легко растворима в воде, но очень мало растворима в этиловом спирте и ацетонитриле. Для дальнейших испытаний в качестве растворителя использовалась вода очищенная.

Согласно ГФ РФ 14 для установления подлинности вещества применяются различные методы, в том числе ЯМР-спектроскопия, хроматография (ТСХ, ГХ и ВЭЖХ) и другие [12]. Одним из основных рекомендуемых методов является инфракрасная спектроскопия. Для записи ИК-спектров образцов использовали ИК-фурье-спектрометр ФСМ 2201 (ООО "ИНФРАСПЕК", Россия) с таблеточным прессом. Спектры записывали при стандартных условиях в таблетках с калия бромидом (рисунок 1).

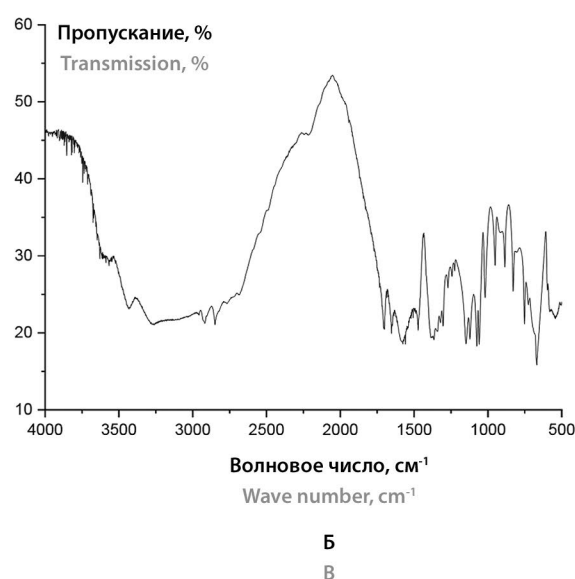
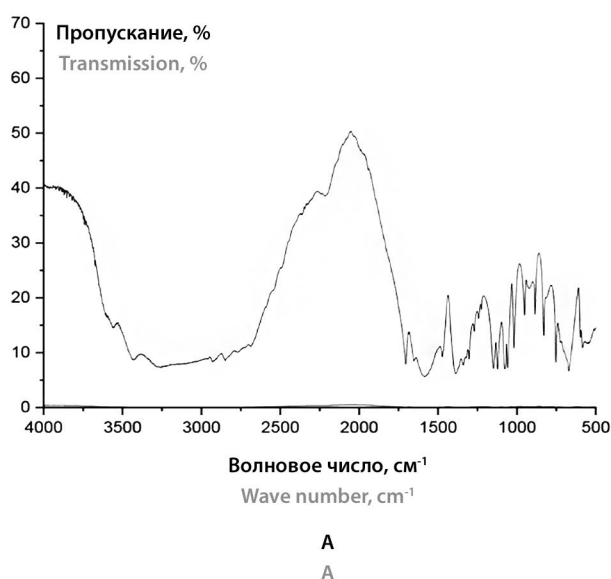


Рисунок 1. Репрезентативный ИК-спектр образца субстанции (А) и стандартного образца (Б)

Figure 1. Representative IR spectrum of the substance sample (A) and the reference sample (B)

Поскольку исследуемые образцы являются кристаллогидратом, область волновых чисел до 2500 см⁻¹ оказалась не информативной, в структуре спектра установлены характеристичные полосы поглощения валентных колебаний карбонильной группы (1704 см⁻¹), валентные симметричные и антисимметричные колебания О—С—О на 1019 и 1303 см⁻¹ [13]. В качестве критерия пригодности субстанции по данному показателю предложено сравнение со спектром стандартного образца.

Температура плавления оценивается для характеристики твердых веществ и является физической постоянной величиной при определенных условиях и служит критерием как подлинности, так и чистоты испытуемых вещества. Температуру плавления стандартизуемой ФС определяли по ОФС.1.2.1.0011.15 «Температура плавления». Использовали капиллярный метод (по ОФС.1.2.1.0011.15 метод 1) и аналитический прибор, используемый для определения температуры плавления с электрическим обогревом и диапазоном измерений в пределах от 20 до 360 °C (Mettler Toledo, США). Для этого применяли стеклянные капилляры длиной 10 см. Исследуемую ФС предварительно высушивали и помещали в капилляр. Скорость нагрева капилляров составила 1 °C в минуту. Измеренная температура плавления ФС составила 126–128 °C.

Удельное вращение раствора ФС определяли методом поляриметрии по ОФС.1.2.1.0018.15. Исследования проводили на автоматическом поляриметре AP-300. Для этого готовили 5%-й водный раствор ФС, заполняли кювету поляриметра и проводили измерение. Характеристику ФС оценивали путем вычисления показателя удельного вращения $[\alpha]$. Данный параметр $[\alpha]_D^{20}$ для водных растворов ФС составил (+10,1)–(+10,3) °C, таким образом, субстанция обладает способностью вращать плоскость поляризации света и является правовращающим оптически активным веществом.

Одними из параметров стандартизации являются рефрактометрические показатели раствора ФС. В данной работе определены показатели преломления и факторы преломления водных растворов ФС методом рефрактометрии.

Определение рефрактометрических показателей проводили при температуре (20 ± 0,5) °C и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм) на рефрактометрах Аббе. Для этого готовили 1–5 % водные растворы ФС. После проведения измерений рассчитывали рефрактометрический фактор (таблица 1).

Таким образом, данные таблицы с рефрактометрическими факторами и показателями преломления являются характеристичными параметрами для ФС.

Определение прозрачности или степени мутности растворов ФС, могут быть включены в перечень методов контроля качества субстанций. Данный параметр позволяет оценить прозрачность и содержание механических примесей в испытуемых растворах ФС.

Таблица 1. Результаты определения рефрактометрических факторов и показателей преломления ФС соли лития ($n_D = 1,3330$)

Table 1. Results of determination of refractometric factors and refractive indices of lithium salt PS ($n_D = 1,3330$)

C, %	n – среднее n – arithmetic mean	F
1	1,3340	0,00200
2	1,3356	0,00130
3	1,3365	0,00116
4	1,3369	0,00097
5	1,3372	0,00084

Измерение проводили путем сопоставления параметров раствора ФС с растворителем или эталонами сравнения визуально. В результате сравнения прозрачности выявлено, что 5%-й водный раствор ФС прозрачен и по данному показателю соответствует растворителю «вода».

Спектрофотометрия в УФ и видимой областях для водного раствора ФС выполнена согласно ГФ РФ на спектрофотометре Agilent Cary 60 (Agilent Technologies, США). Растворы прозрачны в видимом диапазоне. Характерный пик вещества получен в УФ-области, максимум поглощения наблюдается при длине волны 265 нм.

Определение показателя pH раствора ФС выполнено потенциометрическим методом согласно ГФ РФ при температуре 25 °C с использованием лабораторного ионметра ИТАН (ООО «НПП «Томьяналит», Россия). Показатель pH для 1%-го водного раствора ФС составляет 7,8–8,4.

Сульфатную золу определяли в соответствии с ГФ РФ, расчетное значение показателя из образующейся гравиметрической формы лития (Li₂SO₄) составляет 25,21 %, поэтому с учетом возможной ошибки эксперимента предложено значение норматива содержания сульфатной золы в субстанции 28 % (таблица 2).

Таблица 2. Результаты определения сульфатной золы в образце ФС

Table 2. Results of the determination of sulfate ash in a PS sample

Номер образца Sample Number	1	2	3
Содержание сульфатной золы, % Sulphate ash content, %	25,41	25,30	24,99

Тяжелые металлы определяли методом 2 в соответствии с ГФ РФ, содержание тяжелых металлов не должно превышать 0,0005 %. Во всех проанализированных образцах окрашивание испытуемого раствора не превышало окраску стандартного раствора.

Источником родственных примесей может являться только исходная аскорбиновая кислота, в которой, в соответствии с ФС, нормируется содержание оксалатов. Поэтому для стандартизации субстанции литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты по этому показателю предложено использовать методику из ФС.2.1.0058.18 по определению предельного содержания оксалатов.

Поскольку показатель потери в массе при высушивании превышает 0,5 %, определение примесей остаточных органических растворителей (пропанол-2) должно быть включено в стандартизацию субстанции. Определение выполняли методом газовой хроматографии с вводом равновесного пара (headspace) с использованием газового хроматографа Agilent 7890A с пламенно-ионизационным детектором на капиллярной колонке DB-624, 30 м × 0,53 мм. Условия проведения анализа: температура детектора 250 °С, температура инжектора 150 °С, температура колонки 40 °С, газ-носитель – азот, скорость потока 6,85 мл/мин, скорость поддувочного газа 20 мл/мин, скорость подачи водорода 30 мл/мин, подачи воздуха 300 мл/мин при делении потока в соотношении 20:1. Условия Headspace: температура уравнивания 90 °С, время уравнивания 20 мин, температура петли 100 °С, температура линии 110 °С, вводимый объем 1 мл.

Валидацию методики определения остаточных органических растворителей (изопропиловый спирт) проводили по алгоритму валидации методик предельного содержания, для которых требуется изучение диапазона 80–120 % от максимально допустимого содержания (МДС) контролируемой примеси. МДС, в соответствии с ОФС.1.1.0008.15, для изопропилового спирта составляет 0,5 % (или 5000 ppm), поэтому в валидационных мероприятиях исследовали диапазон от 4000 до 6000 ppm (таблица 3).

Таким образом, показана пригодность предложенной методики газохроматографического определения изопропилового спирта в субстанции литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты. Содержание изопропилового спирта во всех исследованных образцах не превышало 0,5 %.

Содержание лития в молекуле ФС определено методом атомно-эмиссионной спектроскопии с ИСП на приборе iCAP 6300 Duo (Thermo Fisher Scientific, Великобритания). Испытуемый раствор готовили растворением точной навески образца субстанции 0,1500 г

в мерной колбе вместимостью 100 мл. Результаты валидации методики показаны в таблице 4. Установленное содержание лития в ФС составило $3,289 \pm 0,003$ %. Расчетное содержание лития в ФС составляет 3,18 %. Предложено нормативное значение этого показателя в диапазоне 2,89–3,53 %.

Следующим важным параметром стандартизации ФС является содержание воды. Данный показатель определили термогравиметрическим методом. Совмещенный анализ термогравиметрия с дифференциально-сканирующей калориметрией (ТГ-ДСК) проводили на анализаторе Q600 (TA Instruments, США). Анализ проводили в корундовых открытых тиглях, от комнатной температуры до 600 °С, со скоростью нагрева 10 °С/минуту, в динамической среде воздуха или аргона (100 мл в минуту). Масса образца ФС составляла 3 мг. Установлено потеря массы 35,2 а.е./моль при повышении температуры в диапазоне 100–119 °С, что соответствует содержанию 2 молекул воды (рисунок 2).

В качестве основного метода для определения содержания воды в субстанции предложено использовать метод Фишера с использованием титратор 915 KF Ti-Touch (Metrohm, Швейцария). Расчетное значение содержания воды в субстанции – 16,51 %, поэтому, с учетом допустимой ошибки эксперимента, предложен норматив содержания воды от 14,9 до 18,1 %.

Количественное определение стандартизуемого образца выполняли вольтамперометрическим методом на рабочем стекло-углеродном электроде при +0,5 (В) в буферном растворе KCl 0,1 моль/дм³. Для определения концентрации ФС готовили водный раствор ФС, для чего 100 мг (точная навеска) образца ФС помещали в мерную колбу и добавляли 100 см³ буферного раствора хлористого калия 0,1 моль/дм³ до метки. Далее соответствующие измеряемые объемы помещали в электрохимическую ячейку вольтамперометрического анализатора ТА-2 (ООО НПП «Техноаналит», Россия). Регистрацию вольтамперо-

Таблица 3. Результаты валидации методики определения остаточного количества изопропилового спирта в субстанции

Table 3. Results of the validation of the method for determining the residual amount of isopropyl alcohol in the substance

№	Показатель Indicator	Критерий пригодности методики Criteria for the suitability of the methodology	Уровень содержания, % Content level, %	Фактическое значение СКО, % The actual value of the SD, %
1	Повторяемость Repeatability	Относительное СКО повторяемости не более 2,0 % The relative frequency of repeatability is not more than 2.0 %	80	1,79
			100	1,75
			120	1,67
2	Промежуточная прецизионность Intermediate precision	Относительное СКО промежуточной прецизионности не более 2,5 % The relative SD of intermediate precision is not more than 2.5 %	80	1,78
			100	1,68
			120	1,60
3	Правильность Accuracy	% восстановления от 95,0 до 105,0 % % recovery from 95.0 to 105.0 %	80	99,84
			100	99,62
			120	99,21

Таблица 4. Результаты валидации методики определения лития в субстанции
Table 4. Results of the validation of the method for determining lithium in the substance

№	Показатель Indicator	Критерий пригодности методики Criteria for the suitability of the methodology	Уровень содержания, % Content level, %	Фактическое значение СКО, % The actual value of the SD, %
1	Повторяемость Repeatability	Относительное СКО повторяемости не более 5,0 % The relative frequency of repeatability is not more than 5.0 %	80	2,13
			100	2,01
			120	1,85
2	Промежуточная прецизионность Intermediate precision	Относительное СКО промежуточной прецизионности не более 10 % The relative SD of intermediate precision is not more than 10 %	80	2,25
			100	2,21
			120	2,11
3	Правильность Accuracy	% восстановления от 95,0 до 105,0 % % recovery from 95.0 to 105.0 %	80	99,18
			100	99,37
			120	99,42

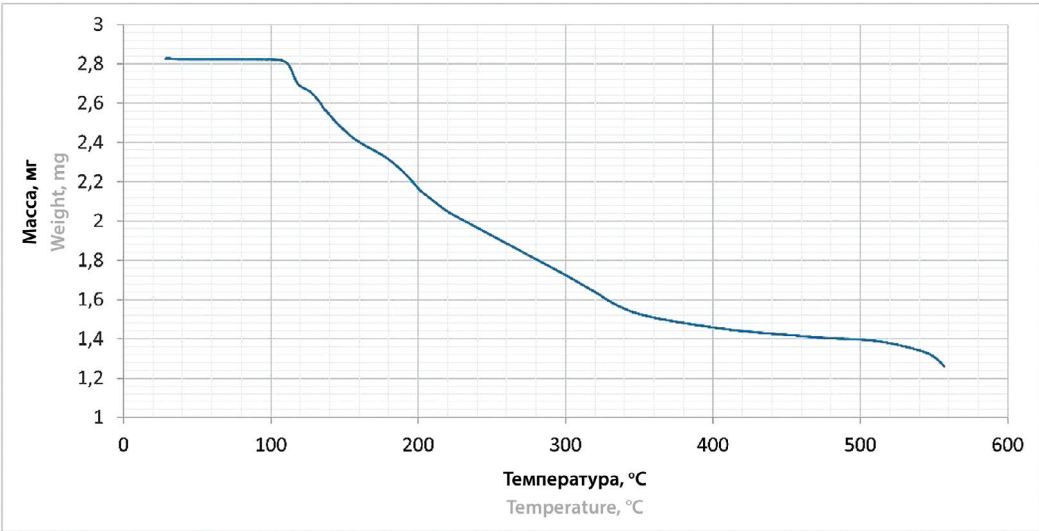


Рисунок 2. Термограмма ФС термogrавиметрическим методом
Figure 2. Thermogram of the PS by the thermogravimetric method

грам проводили в постоянноточном режиме съемки при линейной скорости развертки потенциала 30 мВ/с. После записи стабильных вольтамперограмм фона вносили аликвоту раствора ФС объемом 0,1 мл и снимали вольтамперограмму в тех же условиях. Концентрацию субстанции оценивали по пиковым значениям анодного тока электроокисления при потенциале +0,5 В методом добавок ФС. Далее вносили добавку с ФС известной концентрации с расчетом на удвоение высоты пика тока электроокисления вещества. Далее проводили измерение в аналогичных параметрах системы.

Обработка результатов измерений. Среднеарифметическое значение тока вычисляли из не менее чем двух значений результатов измерений.

Массовую концентрацию X , мг/дм³ ФС в анализируемой пробе вычисляли по формуле:

$$X = (I_1 \times C_{\text{доб.}} \times V_{\text{доб.}} \times V_1) / ((I_2 - I_1) \times m \times V_2),$$

где I_1 – максимальный анодный ток электровосстановления вещества на вольтамперограмме для анализируемой пробы, мкА; $C_{\text{доб.}}$ – содержание вещества в добавке, мг/дм³; $V_{\text{доб.}}$ – вносимый объем, см³; V_1 – объем пробы, равный 100 см³; I_2 – значение пикового тока для пробы с добавкой вещества, мкА; m – навеска пробы для анализа, г (или см³); V_2 – объем взятой для измерения аликвоты, см³.

Выполняли параллельные измерения проб X_1 и X_2 . Расхождение между полученными результатами двух параллельных определений анализируемой пробы не должно превышать предела повторяемости (сходимости), приведенного в таблице 1, по формуле:

$$|X_1 - X_2| \leq r.$$

Абсолютное значение предела повторяемости (сходимости) рассчитывали для среднеарифметического значения результатов двух параллельных определений по формуле:

$$X = (X_1 + X_2)/2, r \leq 0,15X.$$

При выполнении данных условий значение X принимается за окончательный результат измерения. Испытуемый образец должен содержать от 95 до 105 % в пересчете на чистое вещество. Предел обнаружения субстанции составил 4,7 мкмоль/дм³. Основные показатели валидации методики количественного определения ФС представлены в таблице 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка перспективных радиосенсибилизаторов является важным и необходимым этапом повышения эффективности лучевой терапии и в конечном итоге улучшении прогноза лечения онкологических заболеваний. В ходе работы исследован ряд параметров, регламентируемых Государственной фармакопеей РФ для стандартизации ФС, в том числе описание, растворимость, подлинность, температура

плавления, количественное определение и другие. По каждому параметру получены экспериментальные числовые значения, на основании которых разработан проект спецификации на ФС литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты (таблица 6). Полученные результаты позволяют провести всестороннюю характеристику ФС и оценить параметры качества продукта, что создает основу для получения лекарственной формы и дальнейшего изучения свойств для создания лекарственного препарата с радиосенсибилизирующим действием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы синтезированы опытные образцы литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты и проведена ее стандартизация в качестве фармацевтической субстанции в соответствии с требованиями Государственной фармакопеей РФ.

Таблица 5. Результаты валидации методики количественного определения субстанции

Table 5. Results of the validation of the method for the quantitative

№	Показатель Indicator	Критерий пригодности методики Criteria for the suitability of the methodology	Уровень содержания, % Content level, %	Фактическое значение СКО, % The actual value of the SD, %
1	Повторяемость Repeatability	Относительное СКО повторяемости не более 5,0 % The relative frequency of repeatability is not more than 5.0 %	80	3,42
			100	3,25
			120	2,77
2	Промежуточная прецизионность Intermediate precision	относительное СКО промежуточной прецизионности не более 10 % The relative SD of intermediate precision is not more than 10 %	80	4,22
			100	4,16
			120	3,96
3	Правильность Accuracy	% восстановления от 95,0 до 105,0 % % recovery from 95.0 to 105.0 %	80	97,37
			100	97,69
			120	97,83

Таблица 6. Проект спецификации на ФС литиевой соли гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты

Table 6. Draft specification for PS of the lithium salt of 2,3-dehydro-L-gulonic acid gamma-lactone

Показатель Indicator	Методы Methods	Нормы Norms
1	2	3
Описание: Description:	Визуально Visually	Белый или почти белый порошок, без запаха White or almost white powder, odorless
Растворимость Solubility	ГФ РФ SP RF	Легко растворим в воде, не растворим в спирте этиловом и ацетонитриле It is easily soluble in water, insoluble in ethyl alcohol and acetonitrile
Подлинность ИК Authenticity of the IR spectrum	ГФ РФ SP RF	ИК-спектр исследуемого вещества должен совпадать со спектром стандартного образца и иметь характеристичные максимумы: 1586, 1387, 1149, 1122, 1076 и 1059 см ⁻¹ The IR spectrum of the test substance must coincide with the spectrum of the standard sample and have characteristic maxima: 1586, 1387, 1149, 1122, 1076 and 1059 cm ⁻¹
УФ UV	ГФ РФ SP RF	В УФ-спектре исследуемого вещества должен наблюдаться максимум поглощения при длине волны 265 нм In the UV spectrum of the substance under study, an absorption maximum should be observed at a wavelength of 265 nm

Показатель Indicator	Методы Methods	Нормы Norms
1	2	3
Качественная реакция на литий Qualitative reaction to lithium	ГФ РФ SP RF	Препарат должен окрашивать пламя горелки в интенсивный темно-красный цвет The preparation should color the flame of the burner in an intense dark red color
Качественная реакция на аскорбат Qualitative reaction to ascorbate	ГФ РФ SP RF	1 мл 5%-го раствора субстанции должен обесцвечивать 2 мл 0,1 М раствора йода 1 ml of 5 % solution of the substance should discolor 2 ml of 0.1 M iodine solution
Температура плавления Melting point	ГФ РФ, метод 1 SP RF, method 1	126–128 °C
Показатель преломления Refractive index	ГФ РФ SP RF	Показатель преломления 5%-го раствора должен быть 1,3370–1,3374 The refractive index of the 5 % solution should be 1,3370–1,3374
Удельное вращение Specific rotation	ГФ РФ SP RF	+10,1 – +10,5
Прозрачность раствора Transparency of the solution	ГФ РФ SP RF	5%-й раствор субстанции должен выдерживать сравнение с водой очищенной A 5 % solution of the substance should be compared with purified water
Цветность раствора The color of the solution	ГФ РФ SP RF	5%-й раствор субстанции должен выдерживать сравнение с водой очищенной A 5 % solution of the substance should be compared with purified water
pH	ГФ РФ SP RF	7,8–8,4
Сульфатная зола Sulphate ash	ГФ РФ SP RF	Не более 28 % No more than 28 %
Тяжелые металлы Heavy metals	ГФ РФ, метод 2 SP RF, method 2	Не более 0,0005 % Not more than 0,0005 %
Посторонние примеси (оксалаты) Foreign impurities (oxalates)	ГФ РФ SP RF	Должно выдерживать испытание Must stand the test
Литий Lithium	ГФ РФ SP RF	2,89–3,53 %
Вода Water	ГФ РФ, метод Фишера SP RF, Fischer 's method	16,5 % (дигидрат) 16,5 % (dihydrate)
Остаточные органические растворители Residual organic solvents	ГФ РФ, ГХ SP RF, GC	Изопропиловый спирт – не более 5 мг/г Isopropyl alcohol – no more than 5 mg/g
Количественное определение Quantitative determination	В соответствии с НД In accordance with the ND	От 95,0 до 105,0 % From 95,0 to 105,0 %
Микробиологическая чистота Microbiological purity	ГФ РФ SP RF	Общее число аэробных микроорганизмов не более 10 ⁴ КОЕ в 1 г Общее число дрожжевых и плесневых грибов не более 10 ² КОЕ в 1 г Энтеробактерий, устойчивых к желчи, – не более 10 ² КОЕ в 1 г Отсутствие <i>E.coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> в 1 г Отсутствие <i>Salmonella spp.</i> в 25 г The total number of aerobic microorganisms is not more than 10 ⁴ CFU in 1 g The total number of yeast and mold fungi is not more than 10 ² CFU in 1 g <i>Enterobacteria</i> resistant to bile – no more than 10 ² CFU in 1 g Absence of <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> in 1 g Absence of <i>Salmonella spp.</i> in 25 g

ЛИТЕРАТУРА

1. Tondo L., Alda M., Bauer M., Bergink V., Grof P., Hajek T., Lewitka U., Licht R. W., Manchia M., Müller-Oerlinghausen B., Nielsen R. E., Selo M., Simhandl C., Baldessarini R. J. Clinical use of lithium salts: guide for users and prescribers. *International Journal of Bipolar Disorders*. 2019;7(1):16. DOI: 10.1186/s40345-019-0151-2.
2. Plotnikov E. V., Voronova O. A., Linert W., Martemianov D., Korotkova E., Dorozhko E. V., Astashkina A., Martemianova I., Ivanova S., Bokhan N. Antioxidant and Immunotropic Properties of some Lithium Salts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6:086–089. DOI: 10.7324/JAPS.2016.600115.
3. Плотников Е. В., Литвак М. М. Применение аскорбата лития в качестве церебропротективного средства на модели ишемиче-

- ского инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова* 2020;120(3–2):29–32. DOI: 10.17116/jnevro202012003229.
4. Plotnikov E. V., Losenkov I., Epimakhova E., Bohan N. Protective Effects of Pyruvic Acid Salt Against Lithium Toxicity and Oxidative Damage in Human Blood Mononuclear Cells. *Adv Pharm Bull.* 2019;9(2):302–306. DOI: 10.15171/apb.2019.035.
 5. Plotnikov E. V., Korotkova E., Voronova O. A., Dorozhko E., Bohan N. Plotnikov S. Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells. *Physiology and Pharmacology.* 2015;19(2):107–113.
 6. Третьякова М. С., Дрозд А. Г., Белоусов М. В., Бразовский К. С., Ларькина М. С., Кривошеков С. В., Артамонов А. А., Милойчикова И. А., Безмага А. В., Большаков А. М., Сухих Е. С., Плотников Е. В. Изучение радиосенсибилизирующего действия аскорбата лития при нейтронном и фотонном облучении опухолевых клеток. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(2):185–189. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-185-189.
 7. Greenberg D. B., Younger J., Kaufman S. D. Management of lithium in patients with cancer. *Psychosomatics.* 1993;34(5):388–394. DOI: 10.1016/s0033-3182(93)71841-1.
 8. Tretayakova M. S., Brazovskii K. S., Belousov M. V., Artamonov A., Stuchebrov S., Gogolev A., Larkina M. S., Sukhikh E., Plotnikov E. V., Radiosensitizing Effects of Lithium Ascorbate on Normal and Tumor Lymphoid Cells under X-ray Irradiation. *Current Bioactive Compounds.* 2023;19(8). DOI: 10.2174/1573407219666230503094421.
 9. Kaźmierczak-Barańska J., Boguszewska K., Adamus-Grabicka A., Karwowski B. T. Two Faces of Vitamin C-Antioxidative and Pro-Oxidative Agent. *Nutrients.* 2020;12(5). DOI: 10.3390/nu12051501.
 10. Sotler R., Poljšak B., Dahmane R., Jukić T., Pavan Jukić D., Rotim C., Trebše P., Starc A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clinica Croatica.* 2019;58(4):726–736. DOI: 10.20471/acc.2019.58.04.20.
 11. Cameron E., Pauling L. Cancer and Vitamin C: A Discussion of the Nature, Causes, Prevention, and Treatment of Cancer with Special Reference to the Value of Vitamin C. Philadelphia: Camino Books; 1993. 278 p.
 12. Государственная фармакопея РФ. М.: Министерства здравоохранения РФ; 2018.
 13. Umer A., Naveed S., Ramzan N., Rafique M. S., Imran M. A green method for the synthesis of Copper Nanoparticles using L-ascorbic acid. *Matéria (Rio de Janeiro).* 2014;19(3):197–203. DOI: 10.1590/S1517-70762014000300002.
 - nikov E. V. Study of the Radiosensitizing Action of Lithium Ascorbate Under Neutron and Photon Irradiation of Tumor Cells. *Drug development & registration.* 2023;12(2):185–189. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-185-189.
 7. Greenberg D. B., Younger J., Kaufman S. D. Management of lithium in patients with cancer. *Psychosomatics.* 1993;34(5):388–394. DOI: 10.1016/s0033-3182(93)71841-1.
 8. Tretayakova M. S., Brazovskii K. S., Belousov M. V., Artamonov A., Stuchebrov S., Gogolev A., Larkina M. S., Sukhikh E., Plotnikov E. V., Radiosensitizing Effects of Lithium Ascorbate on Normal and Tumor Lymphoid Cells under X-ray Irradiation. *Current Bioactive Compounds.* 2023;19(8). DOI: 10.2174/1573407219666230503094421.
 9. Kaźmierczak-Barańska J., Boguszewska K., Adamus-Grabicka A., Karwowski B. T. Two Faces of Vitamin C-Antioxidative and Pro-Oxidative Agent. *Nutrients.* 2020;12(5). DOI: 10.3390/nu12051501.
 10. Sotler R., Poljšak B., Dahmane R., Jukić T., Pavan Jukić D., Rotim C., Trebše P., Starc A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clinica Croatica.* 2019;58(4):726–736. DOI: 10.20471/acc.2019.58.04.20.
 11. Cameron E., Pauling L. Cancer and Vitamin C: A Discussion of the Nature, Causes, Prevention, and Treatment of Cancer with Special Reference to the Value of Vitamin C. Philadelphia: Camino Books; 1993. 278 p.
 12. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. (In Russ.)
 13. Umer A., Naveed S., Ramzan N., Rafique M. S., Imran M. A green method for the synthesis of Copper Nanoparticles using L-ascorbic acid. *Matéria (Rio de Janeiro).* 2014;19(3):197–203. DOI: 10.1590/S1517-70762014000300002.

REFERENCES

1. Tondo L., Alda M., Bauer M., Bergink V., Grof P., Hajek T., Lewitka U., Licht R. W., Manchia M., Müller-Oerlinghausen B., Nielsen R. E., Selo M., Simhandl C., Baldessarini R. J. Clinical use of lithium salts: guide for users and prescribers. *International Journal of Bipolar Disorders.* 2019;7(1):16. DOI: 10.1186/s40345-019-0151-2.
2. Plotnikov E. V., Voronova O. A., Linert W., Martemianov D., Korotkova E., Dorozhko E. V., Astashkina A., Martemianova I., Ivanova S., Bokhan N. Antioxidant and Immunotropic Properties of some Lithium Salts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2016;6:086–089. DOI: 10.7324/JAPS.2016.600115.
3. Plotnikov E. V., Litvak M. M. Lithium ascorbate as a cerebroprotective agent in a model of ischemic stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S. S. Korsakova.* 2020;120(3–2):29–32. (In Russ.) DOI: 10.17116/jnevro202012003229.
4. Plotnikov E. V., Losenkov I., Epimakhova E., Bohan N. Protective Effects of Pyruvic Acid Salt Against Lithium Toxicity and Oxidative Damage in Human Blood Mononuclear Cells. *Adv Pharm Bull.* 2019;9(2):302–306. DOI: 10.15171/apb.2019.035.
5. Plotnikov E. V., Korotkova E., Voronova O. A., Dorozhko E., Bohan N. Plotnikov S. Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells. *Physiology and Pharmacology.* 2015;19(2):107–113.
6. Tretayakova M. S., Drozd A. G., Belousov M. V., Brazovskiy K. S., Larkina M. S., Krivoshechekov S. V., Artamonov A. A., Mилойчикова I. A., Bezмага A. V., Bolshakov A. M., Sukhikh E. S., Plot-