

## STUDIU ASUPRA COMPATIBILITĂȚII VITAMINEI B<sub>1</sub> CU CISTEINA ÎN SISTEME LICHIDE

dr. I. Ristea, dr. Adriana Popovici, Gyöngyi Dudutz

În elaborarea preparatelor polivitamine includerea tiaminei prezintă dificultăți datorită stabilității reduse a acestei substanțe sub acțiunea diferiților factori (pH, agenți oxidanți etc.) (1, 2). Din această cauză prezența în sisteme lichide a unor stabilizanți alături de tiamină este absolut necesară concomitent cu realizarea unui pH optim.

Posibila interacțiune chimică între substanțele active asociate sau efectul direct al substanțelor auxiliare asociate din cadrul preparatelor polivitamine, pot constitui factori responsabili pentru un răspuns farmacocinetic inegal sau limitat. eliberarea integrală a medicamentului în biofază fiind absolut indispensabilă pentru instalarea acțiunii terapeutice (3, 4). Acest fapt ne-a determinat să întreprindem un studiu sistematic, fizico-chimic și biologic care să contribuie la elucidarea gradului de biodisponibilitate a tiaminei hidroclorice în prezența cisteinei în sisteme lichide.

### Material și metodă

În presupunerea formării unui complex molecular, ca urmare a interacțiunii chimice între cele două substanțe, complex de o mai mică sau mai mare stabilitate, ce ar fi mai greu absorbabil prin membranele biologice decât substanța medicamentoasă necomplexată (5), am apelat la determinări potențiometrice, conductometrice și biologice asupra unor soluții apoase în amestec, a celor două substanțe.

Determinările potențiometrice și conductometrice efectuate după metoda variațiilor continue a lui Job (6) asupra unor soluții apoase echimolare  $1 \cdot 10^{-3}M$  de tiamină hidroclorică și cisteină relevă un raport molar de combinare dintre reactanți de 1:1.

Spre exemplificare redăm în figura nr. 1 variația conductibilității specifice.

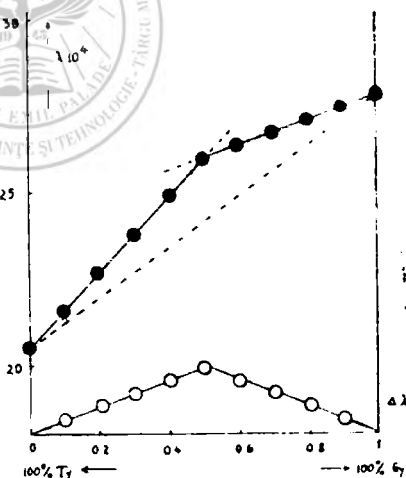


Fig. nr. 1: Variația conductibilității specifice la amestecul, după metoda variațiilor continue, a unor soluții de tiamină hidroclorică  $1 \cdot 10^{-2}M$  și cisteină hidroclorică  $1 \cdot 10^{-2}M$  X tiamină = 0,5

La același rezultat se ajunge și în cazul în care se determină conductibilitatea specifică a unor soluții izoconductibile de cisteină și tiamină.

În scopul aflării unei măsuri cantitative a tendinței de formare de combinație complexă, respectiv a stabilității complexilor formați în sistemul clorhidrat de tiamină-cisteină, am apelat la calculul constantelor de formare (7).

Pentru aceasta, în probe separate s-a urmărit variația de pH înregistrată la adăos de hidroxid de sodiu la 25 ml de clorhidrat de tiamină de concentrație  $1 \cdot 10^{-2} M$  (fig. nr. 2 a). Determinările s-au repetat și pentru

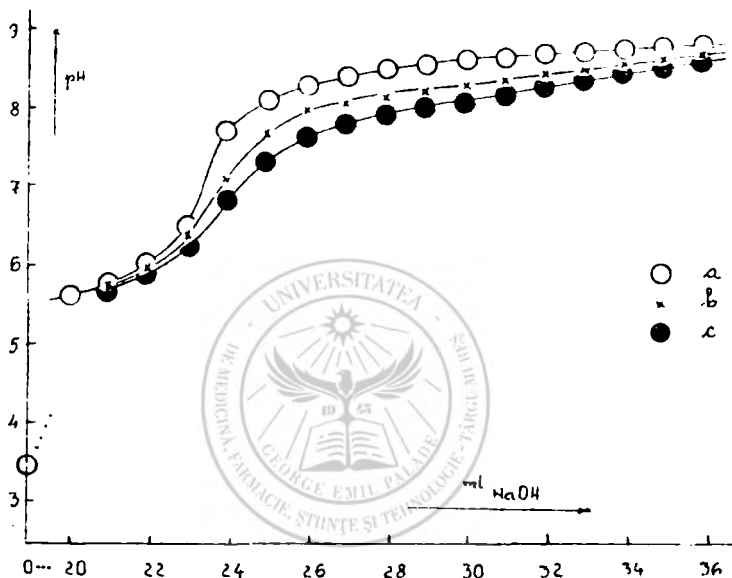


Fig. nr. 2: Variația de pH obținută la adăugarea soluției de NaOH  $1 \cdot 10^{-2} M$  peste 25 ml din soluțiile:  
 curba a: tiamină  $1 \cdot 10^{-2} M$   
 curba b: tiamină  $1 \cdot 10^{-2} M$  + cisteină  $1 \cdot 10^{-3} M$   
 curba c: tiamină  $1 \cdot 10^{-2} M$  + cisteină  $2 \cdot 10^{-3} M$

adaosul de cisteină în așa fel încât să avem un raport de cisteină față de tiamină de 1:10 (curba b din fig. nr. 2), respectiv 1 cisteină : 5 tiamină (curba c din fig. nr. 2).

Variația de pH s-a datorat adăugării unei soluții de hidroxid de sodiu  $1 \cdot 10^{-2} M$  lipsită de carbonat.

În prezența cisteinei (curbele b și c din fig. nr. 2) se pun în libertate protoni după cum rezultă din consumurile suplimentare de bază, consumuri ce dau în mod direct cantitatea de cisteină legată în complex.

Conform teoriei Bjerrum (7) s-au calculat cu ajutorul formulei de-

$$[\text{Thy}^{2-}] = \frac{(\text{tiamin\u0103} - \bar{n} \text{ NaOH}) \cdot 1000}{(7,94 \cdot 10^{13} [\text{H}^+]^2 + 1,10^3 [\text{H}^+] + 1) (V + \Delta V)}$$

concentra\u021bia ligandului liber  $[\text{Thy}^{2-}]$  \u0219i num\u0103rul mediu de liganzi angaja\u021bi \u00een complex,  $\bar{n}$ , utiliz\u00e2nd valorile constantelor de protonare ale tiaminei calculate \u00eentr-o lucrare anterioar\u0103 (8).

Calculule efectuate permit reprezentarea valorilor lui  $\bar{n}$  \u00een func\u021bie de  $-\log[\text{Thy}^{2-}]$  corespunz\u0103toare, ob\u021bin\u00e2ndu-se perechile de curbe de formare din domeniul de pH cuprins \u00eentre 6,50—8,50 (fig. nr. 3).

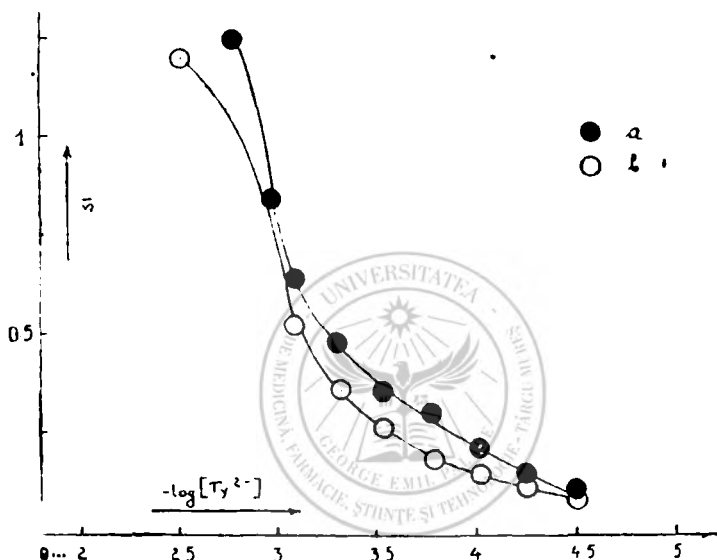


Fig. nr. 3: Perechea de curbe de formare a sistemului:  
10 tiamin\u0103 : 1 cistein\u0103 (curba a)  
5 tiamin\u0103 : 1 cistein\u0103 (curba b)

De pe aceast\u0103 figur\u0103 la valoarea lui  $\bar{n} = 0,5$  s-a citit valoarea  $\log k_1$  \u0219i s-a calculat constanta medie de formare a complexului rezultat \u00een raportul molar 1 tiamin\u0103 : 1 cistein\u0103 care are valoarea  $k_1 = 2,40 \cdot 10^3$ .

\u00c2n continuare am aplicat metode biologice care au urm\u0103rit:

a) Dinamica transportului activ al ionilor de sodiu prin tegument de broasc\u0103 izolat, dup\u0103 metoda Ussing \u0219i Zehran (9), dup\u0103 aplicarea solu\u021biilor apoase de clorhidrat de tiamin\u0103 0,02% solu\u021biei de clorhidrat de cistein\u0103 0,15%, \u0219i \u00een amestec, \u00een interval de 2 ore, \u0219i determinarea transportului cantitativ \u00een  $\mu\text{Eq Na}^+/2$  ore.

Rezultatele s\u00e2nt trecute \u00een figura nr. 4 a.

b) Dinamica transferului de vitamin\u0103 B<sub>1</sub> \u00een solu\u021bie \u0219i \u00een asociere cu cisteina prin membrana semipermeabil\u0103 utiliz\u00e2nd metoda dializei. Determinarea cantit\u0103\u021bii cedate de vitamin\u0103 B<sub>1</sub> s-a f\u0103cut printr-o metod\u0103 spec-

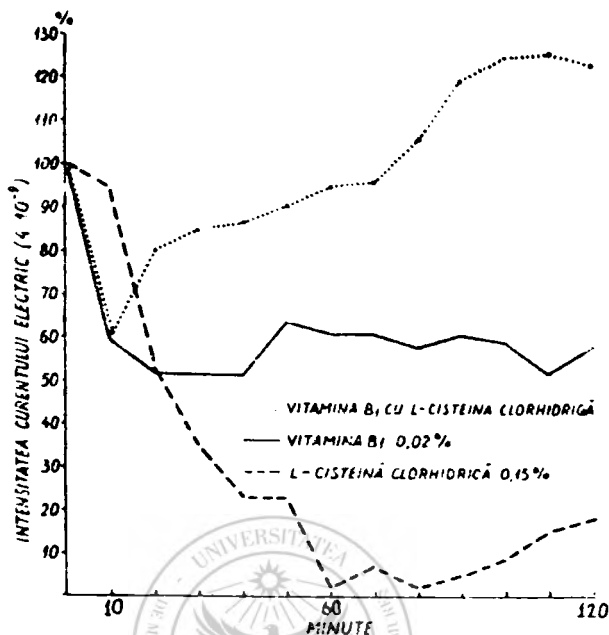


Fig. nr. 4 a: Dinamica transportului activ în prezența vitaminei B<sub>1</sub> și a L-cisteinei clorhidrică

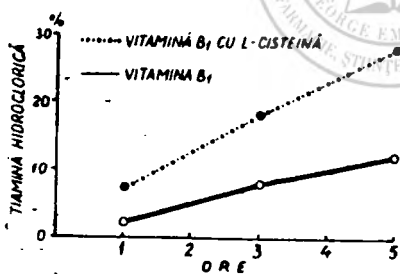


Fig. nr. 4 b: Dinamica transferului prin membrană semipermeabilă.

trofotometrică la lungimea de undă  $\lambda = 530 \text{ nm}$ . pe baza unei reacții de diazotare.

S-a determinat și viteza constantelor medii de transfer ( $k$ ) pentru un interval de 5 ore. Rezultatele sînt trecute în figura nr. 4.b.

#### Rezultate și discuții

1. Măsurătorile conductometrice și de pH relevă formarea unui complex între tiamină și cisteină, cu o foarte mică stabilitate, raportul molar de combinare dintre reactanți fiind de 1 : 1.

2. Din figura nr. 4 a care redă modificarea transportului activ al ionilor de sodiu în prezența vitaminei B<sub>1</sub>, a cisteinei hidroclorice și a soluției conținind ambele componente, se constată că cisteina scade considerabil permeabilitatea membranei. Efectul acesta este comun și celorlalte două soluții, dar numai în primele 10—20 minute ale transferului, după care se înregistrează o creștere marcată a intensității curentului electric. Transportul cantitativ maxim exprimat în  $\mu\text{Eq Na}^+/2$  ore se observă în cazul soluției cu vitamina B<sub>1</sub>, iar în cazul amestecului cu cisteina se situează la o valoare intermediară, ceea ce indică o diminuare cu 42,66% a transferului față de cisteina singură la care diminuarea transportului sub aspect cantitativ este cu 52,23% față de soluția de tiamină luată ca etalon.

3. Urmărind dinamica transferului prin membrană (fig. nr. 4 b) se observă o mărire a difuzibilității tiaminei în prezența cisteinei. Constanta vitezei medii de transfer( $k$ ) a vitaminei B<sub>1</sub> este mult diminuată ( $k = 0,009033$ ) față de a soluției conținind ambele componente ( $k = 0,022186$ ), ceea ce denotă o biodisponibilitate convenabilă în asociere.

4. Ambele teste biologice efectuate confirmă posibilitatea asocierii celor două substanțe. cisteina jucînd chiar rol de mediator în facilitarea transferului.

Sosit la redacție: 28 martie 1977.

#### Bibliografie

1. Hüttenrauch R.: Die Pharmazie (1969), 24, 761; 2. Leucuța S., Hondor A.: Practica farmaceutică (1973) II, 161; 3. Block L. H., Lamy P. P.: Pharm. Acta. Helv. (1969), 44, 53; 4. Popovici A., Papp J., Rogoșcă M., Aron A.: Studiul transferului vitaminelor hidrosolubile în prezența unor auxiliari. Comunicare la U.S.S.M., filiala Mureș, Secția farmacie, aprilie, 1976; 5. Leucuța S.: Introducere în biofarmacie, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1975, 119; 6. Job P.: Ann. Chim. (1928), 10, 113; (1936), 11, 97, cit. 7; 7. Inczédi J.: Komplex egyensúlyok analitikai alkalmazása, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1970, 130; 8. Ristea I., Dudutz Gy.: Studiul fizico-chimic al interacțiunii acidului boric cu unele vitamine hidrosolubile. Comunicare la U.S.S.M., filiala Mureș, Secția farmacie, 26 febr. 1976; 9. Bures I., Petron M., Zacher I.: Electrophysiological Methods in Biological Research. Czech. Academy of Science. 1962.

#### STUDY ON THE COMPATIBILITY OF THIAMINE WITH CYSTEINE IN LIQUID SYSTEMS

Measurements of specific conductivity and pH made on some equimolar and isoconductive solutions of vitamin B<sub>1</sub> and cysteine, pooled by the method of continuous variations have revealed the formation of a compound in the molar ratio of 1 thiamine: 1 cysteine. The calculated value of the formation constant of the compound obtained is  $k_1 = 2.40 \cdot 10^3$ . The biological determinations have revealed the active character of cysteine on the transfer through the membrane and the possibility of associating with thiamine. Thiamine diffusibility ( $k = 0.009033$ ) is lowered as against that of the solution containing cysteine, too ( $k = 0.022186$ ), which confirms the possible association. cysteine being just a mediator in making the transfer easier.