Б. В. ПАВЛЮК¹ (<http://orcid.org/0000-0003-1276-0114>),Ю. Я. МЕЛЬНИК² (<http://orcid.org/0000-0002-8516-9926>), ст. наук. співроб.,Т. А. ГРОШОВИЙ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-6427-2158>), д-р фарм. наук, проф.,М. Б. ЧУБКА¹ (<http://orcid.org/0000-0002-5666-5496>), канд. фарм. наук, доцент,В. Й. СКОРОХОДА² (<http://orcid.org/0000-0002-2352-5964>), д-р техн. наук, проф.¹ Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України² Національний університет «Львівська політехніка»**ДОСЛІДЖЕННЯ ВОДНОГО ВИТЯГУ З КСЕНОДЕРМИ ЯК АКТИВНОГО
ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ІНГРЕДІЄНТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ****Ключові слова:** ксенодерма, водний витяг, амінокислоти, густина, в'язкістьB. V. PAVLIUK¹ (<http://orcid.org/0000-0003-1276-0114>),Yu. Ya. MELNYK² (<http://orcid.org/0000-0002-8516-9926>),T. A. HROSHOVYI¹ (<http://orcid.org/0000-0002-6427-2158>),M. B. CHUBKA¹ (<http://orcid.org/0000-0002-5666-5496>),V. Y. SKOROKHODA² (<http://orcid.org/0000-0002-2352-5964>)¹ Horbachevsky Ternopil National Medical University² Lviv Polytechnic National University**RESEARCH OF WATER EXTRACTION FROM XENODERM AS AN ACTIVE
PHARMACEUTICAL INGREDIENT IN DRUGS****Key words:** xenoderm, water extract, amino acids, density, viscosity

На сьогодні одними з найпоширеніших видів травм у побуті та на виробництві в усьому світі є опіки. В Україні частота опіків за останні роки зменшується, головним чином серед дорослого населення, проте ступінь їх тяжкості зростає, особливо, у педіатричних та геріатричних хворих. За частотою опікові травми займають друге місце серед дитячих травм, проте за важкістю клінічного перебігу, проблематичністю їх лікування та можливими наслідками є одними із найскладніших. Впровадження сучасних методів лікування опікових травм, застосування нових лікарських засобів (ЛЗ), у тому числі для місцевого лікування, дещо змінили клінічний перебіг опікових травм, проте питання лікування опіків залишається актуальним і сьогодні для медицини загалом та фармації зокрема [1–3].

Опікові травми характеризуються пошкодженням шкіри, слизових оболонок, частото тканин, що прилягають, внаслідок дії різних чинників, а саме, високої температури (термічні опіки), хімічно активних речовин (хімічні опіки) чи фізико-хімічних чинників, таких як електричний струм і радіація (електричні та променеві опіки) [1, 2].

У зв'язку з цим в Україні розроблено технологію ксенодермоімплантатів із шкіри свині та запропоновано відповідний метод лікування опіків. Ліюфілізовані ксенодермотрансплантати дозволені до застосування у лікувальних закладах України. Впровадження в клінічну практику ксенодермотрансплантатів як замінників шкіри дало змогу зменшити смертність хворих із важкими опіками на 30%, а терміни перебування хворих у стаціонарних відділеннях лікарень – до 18–20 днів [4–6].

Корекція опікової травми із застосуванням подрібненого субстрату ліюфілізованих ксенодермотрансплантатів шкіри свині сприяє відновленню ефективності функціонування антиоксидантної системи, зниженню вмісту у крові продуктів вільнорадикального окиснення [7]. Інтракон'юнктивальне застосування екстракту кріоліофілізованої шкіри свині дає змогу значно покращити і пришвидшити регенераторні процеси в тканинах рогівки після її опіків [8].

Таким чином, подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині (ксенодерми) є перспективним активним інгредієнтом у технології ЛЗ різних форм випуску з широким спектром фармакологічної активності [9].

Метою нашого дослідження стало вивчення структурно-механічних властивостей водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми, який одержаний за відповідною технологією, та визначення його амінокислотного складу фізико-хімічним методом аналізу.

Матеріали та методи дослідження

Структурно-механічні характеристики водного витягу вивчали відповідно до вимог статей ДФУ 2.0 («Густина» Т. 1, п. 2.2.5; «В'язкість» Т. 1, п. 2.2.10) [10].

Густину водного витягу з ксенодерми визначали за допомогою пікнометра [11]. Для досліджень використовували скляний пікнометр ПЖ2–50–КН 7/16, відповідно ГОСТ 22524–77 [11]. Густина ρ (г/см³) розраховували за формулою:

$$\rho = \rho_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \frac{(m_2 - m)}{(m_1 - m)},$$

де m – маса порожнього пікнометра, г;

m_1 – маса пікнометра з водою очищеною, г;

m_2 – маса пікнометра з випробовуваною рідиною (водний витяг), г;

$\rho_{\text{H}_2\text{O}}$ – значення густини води за температури випробування, г/см³ [2].

Відносна густина є відношенням маси певного об'єму речовини за температури T_1 до об'єму води, що дорівнює йому за температури T_2 . Відносну густину водного витягу визначали з таких співвідношень:

$$d_{20}^{20} = 1,00180 \times \rho_{20},$$

$$d_4^{20} = 1,00003 \times \rho_{20},$$

де ρ_{20} – значення густини водного витягу за температури 20 °С, г/см³ [10, 11].

В'язкість водного витягу з ксенодерми визначали на віскозиметрі Гепплера ВН 2 MLW (Німеччина) із кулькою, яка падає. Визначали тривалість падіння кульки ($T, \text{с}$) у досліджуваній рідині (водний витяг із ксенодерми) за різних температур. Досліджуваний водний витяг заливали у трубку, опускали кульку і термостатували віскозиметр за температури дослідження з точністю $\pm 0,1$ °С протягом 30 хв. Після цього кульку встановлювали у вихідне положення і вмикали секундомір, коли нижня частина кульки торкалася верхньої позначки, і зупиняли, коли кулька досягала нижньої позначки. Час руху кульки вимірювали 5–7 разів і знаходили середнє значення. Динамічну в'язкість (η , мПа·с) розраховували за формулою [10, 11]:

$$\eta = K \cdot (\rho_k - \rho_p) \cdot t_{\text{сер}},$$

де K – константа кульки (із паспорта приладу);

ρ_k і ρ_p – густини матеріалу кульки і рідини відповідно, г/см³;

$t_{\text{сер}}$ – середній час руху кульки між крайніми позначками, с.

Для досліджень використовували кульку № 3 (матеріал – залізо-нікелевий сплав; $d_k = 15,56$ мм; $\rho_k = 8,1$ г/см³; $K = 0,13$ сПз·см³/г·с).

Оскільки основними діючими речовинами подрібненого субстрату ксенодерми є амінокислоти з вираженою регенеруючою та ранозагоювальною дією, тому у подальших дослідженнях використовували саме їх [4, 9, 12].

Ідентифікацію та кількісне визначення амінокислот (у вільній та зв'язаній формах) у водному витязі з ксенодерми здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), використовуючи 9-флуоренілметоксикарбонілу хлорид (для первинних амінокислот) та о-фталевий альдегід (для вторинних амінокислот) для передколонкової дериватизації, яку виконували в автоматичному режимі з використанням автосамплера та змішувача і поєднували з невідкладним хроматографуванням суміші на обернено-фазовій колонці в режимі градієнтного елюювання. Цей метод визначення амінокислот ґрунтується на екстракції вільних амінокислот та кислотному гідролізі препаратів із подальшим аналізом одержаних гідролізатів [13, 14].

Розчин для визначення вільних амінокислот одержували додаванням до наважки водного витягу (0,15 г), вміщеного у віалу, 4 мл 0,1 моль/л розчину кислоти хлористоводневої, розчин обробляли на ультразвуковій бані за температури 50 °С упродовж 3 год. Для екстракції суми вільних і зв'язаних амінокислот до наважки водного витягу (0,025 г), вміщеного у віалу, додавали 0,5 мл 6 моль/л розчину кислоти хлористоводневої, герметизували та вміщували в термостат за температури 110 °С на 24 год для здійснення гідролізу. Отриману суміш розбавляли водою для хроматографії до 4,0 мл і центрифугували при 5 000 об/хв упродовж 5 хв, 0,5 мл гідролізату упарювали на роторному випарювачі, тричі промиваючи водою очищеною для видалення кислоти хлористоводневої. Отриманий залишок розчиняли у 0,5 мл води очищеної та фільтрували крізь мембранний фільтр із регенованої целюлози (розмір пор – 0,2 мкм). Перед введенням проби в хроматографічну колонку в автоматичному програмованому режимі одержували флуоресцентні похідні амінокислот, необхідні для дослідження [13, 14].

Хроматографічне розділення здійснювали на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, США) з флуоресцентним детектором G1315A (Agilent technologies, США) та автосамплером 1313A (Agilent technologies, США). Довжина колонки Zorbax AAA – 150 мм, внутрішній діаметр – 4,6 мм, діаметр зерна сорбента – 3 мкм. Мобільна фаза А – 40 ммоль/л розчин Na_2HPO_4 із рН 7,8 (5,5 г Na_2HPO_4 моногідрату розчиняють в 1 л води для хроматографії Р, доводять до рН 7,8 10 моль/л розчином NaOH); В – ацетонітрил–метанол–вода (45:45:10, об/об/об). Температура термостата колонки – 40 °С. Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв (схема додається).

Час, хв	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0–2	100	0
2–17	100 → 44	0 → 56
17–20	44 → 0	56 → 100
20–22	0	100
22–24	0 → 100	100 → 0
24–26	100	0

Під час хроматографування детектування здійснювали у такому режимі: до 15 хв – довжина хвилі збудження 340 нм, довжина хвилі випромінювання 450 нм; через 15 хв – довжина хвилі збудження 266 нм, довжина хвилі випромінювання 305 нм. Об'єм інжекції – 0,5 мкл.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували відповідно до вимог ДФУ 2.0, використовуючи програмне забезпечення Microsoft Office Excel 7.0.

Результати дослідження та обговорення

Водний витяг із подрібненого субстрату ксенодерми є однорідним, білого кольору, в'язкої консистенції, з характерним запахом. Його одержували за відповідною технологією, використовуючи воду очищену як екстрагент (1:10) із врахуванням коефіцієнта водопоглинання 4,5%.

Густина та в'язкість водного витягу вивчали за різних температур. Дослідженнями встановлено, що із підвищенням температури динамічна в'язкість витягу зменшується (табл. 1), що дає змогу характеризувати водний витяг як неньютонівську рідину. Також визначено, що зміна температури незначно впливає на значення густини водного витягу (табл. 1).

Т а б л и ц я 1

Залежність густини та динамічної в'язкості водного витягу від температури

Назва характеристики	Температура, °C				
	4	5	10	15	20
Густина, г/см ³	1,0334 ± 0,025	1,0329 ± 0,025	1,0324 ± 0,025	1,0315 ± 0,030	1,0310 ± 0,030
Динамічна в'язкість, мПа×с	16,54 ± 0,48	16,08 ± 0,45	12,86 ± 0,35	10,11 ± 0,27	6,98 ± 0,20

Як видно із одержаних результатів, із підвищенням температури в'язкість водного витягу зменшується більше, а густина зменшується незначно.

На основі одержаних результатів було визначено відносну густина водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми:

$$d_{20}^{20} = 1,00180 \times 1,031 = 1,0329 \text{ (г/см}^3\text{)},$$

$$d_4^{20} = 1,00003 \times 1,031 = 1,0310 \text{ (г/см}^3\text{)}.$$

Порівнюючи час утримування піків амінокислот на хроматограмах досліджуваних зразків (рис. 1, 2) із часом утримування відповідних стандартних зразків амінокислот на хроматограмі розчину порівняння, визначали якісний склад амінокислот у водному витязі з подрібненого субстрату ксенодерми.

Кількісний вміст амінокислот розраховували за значеннями висоти піків досліджуваних амінокислот на відповідних хроматограмах (рис. 1, 2). У водному витязі ідентифіковано та визначено кількісний вміст 16 амінокислот, які представлені як у вільному, так і в зв'язаному стані. Серед ідентифікованих амінокислот 6 є заміінними (серин, гліцин, аланін, пролін, глутамінова та аспарагінова кислоти), 2 – умовно-замінними (аргінін, тирозин) та 8 – незамінними (гістидин, треонін, валін, метіонін, фенілаланін, лізин, лейцин та ізолейцин) амінокислотами (рис. 1, 2).

Рис. 1. Хроматограма розчину водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми, одержана в умовах кількісного визначення вмісту вільних амінокислот

Рис. 2. Хроматограма водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми, одержана в умовах кількісного визначення загального вмісту амінокислот

Результати визначення вмісту амінокислот подано в табл. 2.

Таблиця 2

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у водному витязі на основі ксенодерми

Назва амінокислоти	Час утримування, хв	Вміст амінокислот, мг/г ($n = 5, p < 0,05$)		
		вільні	зв'язані	загальні
Аспарагінова кислота	1,575	$0,22 \pm 0,01$	$1,68 \pm 0,05$	$1,90 \pm 0,05$
Глутамінова кислота	2,519	$0,95 \pm 0,03$	$2,36 \pm 0,05$	$3,31 \pm 0,09$
Серин	5,728	$0,23 \pm 0,01$	$0,58 \pm 0,02$	$0,81 \pm 0,02$
Гістидин	6,854	$0,13 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01$
Гліцин	7,104	$0,65 \pm 0,02$	$1,98 \pm 0,05$	$2,63 \pm 0,06$
Треонін	7,351	$0,17 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01$	$0,49 \pm 0,01$
Аргінін	8,581	$0,28 \pm 0,01$	$1,77 \pm 0,04$	$2,05 \pm 0,05$
Аланін	8,720	$0,39 \pm 0,02$	$1,43 \pm 0,04$	$1,82 \pm 0,05$
Тирозин	10,187	$0,25 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,01$
Валін	12,191	$0,26 \pm 0,01$	$0,56 \pm 0,02$	$0,82 \pm 0,03$
Метіонін	12,447	$0,08 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,01$
Фенілаланін	13,832	$0,15 \pm 0,01$	$0,49 \pm 0,01$	$0,64 \pm 0,02$
Ізолейцин	14,040	$0,16 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,01$
Лейцин	14,760	$0,13 \pm 0,01$	$0,78 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,02$
Лізин	15,230	$0,16 \pm 0,01$	$0,81 \pm 0,02$	$0,97 \pm 0,02$
Пролін	19,310	$0,32 \pm 0,01$	$1,73 \pm 0,05$	$2,05 \pm 0,05$
Сума	-	$4,53 \pm 0,12$	$15,03 \pm 0,43$	$19,56 \pm 0,47$

На підставі одержаних результатів можна зробити висновок, що ідентифіковані амінокислоти знаходяться практично у зв'язаному стані (1,5%). У незв'язаному вигляді найбільшим був вміст глутамінової кислоти та гліцину – 0,09% та 0,06% відповідно. У зв'язаному стані у великій кількості перебувають глутамінова кислота (0,23%), гліцин (0,19%), аспарагінова кислота (0,18%), пролін (0,17%) та аргінін (0,17%).

З-поміж незамінних амінокислот домінують лізін (0,81 мг/г) та лейцин (0,78 мг/г) у зв'язаному стані. У вільному стані вміст амінокислот коливається у межах від 0,08 до 0,95 мг/г залежно від представника. Замінні та умовно замінні амінокислоти переважно знаходяться у зв'язаному вигляді, серед них найбільшим є вміст глутамінової кислоти (2,36 мг/г).

Висновки

1. Досліджено структурно-механічні властивості водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми.
2. Вивчено залежність густини та динамічної в'язкості від температури та встановлено, що зі збільшенням температури в'язкість водного витягу зменшується, а густина змінюється незначно.
3. Визначено методом ВЕРХ амінокислотний склад у водному витязі та підтверджено наявність 16 амінокислот, які перебувають як у вільному, так і в зв'язаному стані.
4. Визначено, що у вільному стані вміст амінокислот коливається в межах від 0,08 до 0,95 мг/г залежно від представника, а у зв'язаному – від 0,01 до 2,36 мг/г, при цьому накопичується найбільше глутамінової кислоти.
5. Одержані результати досліджень дають змогу вибрати показники якості, визначити відповідні їх критерії, які можна запропонувати для стандартизації водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми.

Список використаної літератури

1. Ban K. A., Minei J. P., Laronga C. et al. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: Surgical Site Infection Guidelines // J. Am. Coll. Surg. – 2017. – V. 224, Is. 1. – P. 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2016.10.029>
2. Нагайчук В. І. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.health-medix.com/articles/mistestvo/2010-05-27/10VINHZO.pdf>
3. Vlasenko I. O., Davtian L. L. Active pharmaceutical ingredients in dermatological medicines of Ukrainian pharmaceutical market // Фармац. журн. – 2019. – № 1. – С. 9–19. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/pharmazh_2019_1_3. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.19.01>
4. Yakovlieva L. V., Koshova O. Y., Tkachova O. V. et al. Immunomodulatory properties of the cryopreserved pigskin substrate in an experiment // Asian J. Pharm. – 2018. – N 12 (2). – P. S545–S552. <http://dx.doi.org/10.22377/ajp.v12i02.2390>
5. Крамар С. Б., Волков К. С. Гістологічні та гістохімічні зміни ушкодженої ділянки шкіри в динаміці після експериментальної термічної травми // Вісн. проблем біології і медицини. – 2014. – № 4. – С. 231–235.
6. Kramar S., Volkov K., Nebesna Z. Morphometric studies of the damaged skin area after experimental thermal trauma and during correction with a cryo-lyophilized xenograft skin substrate // Reports of Morphology. – 2018. – N 24 (4). – P. 22–28. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24\(4\)-03](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24(4)-03)
7. Nebesna Z. M., Lisnichuk H. S., Demkiv I. Y. Динаміка змін окисно-відновних реакцій в тканині легень за умов опікової травми та при її корекції субстратом ліофілізованої ксеноскіри // Вісн. проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 4, Т. 1 (124). – С. 124–128.
8. Романюк Т. І. Ультраструктурні особливості репаративних змін у рогівці кролів після її опіків лугом та корекції екстрактом кріоліофілізованої шкіри свині // Вісн. проблем біології і медицини. – 2015. – № 1 (117). – С. 231–235.
9. Вонс Б. В., Мельник Ю. Я., Грошовий Т. А. та ін. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків // Фармац. часопис. – 2019. – № 2. – С. 30–35. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123731>
10. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
11. ГОСТ 22524–77 Пикнометры стеклянные. Технические условия. Гороновский И. Т., Назаренко Ю. П., Некряч Е. Ф. Краткий справочник по химии. – К.: Наукова думка, 1977. – 883 с.
12. Борщевський Г. І., Серединська Н. М. Можливість створення органопрепаратів на основі пептидних комплексів // Фармац. журн. – 2013. – № 5. – С. 58–67.

13. Jámboř A., Molnár-Perl I. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study // J. Chromatography A. – 2009. – V. 1216, Is. 15. – P. 3064–3077. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.01.068>
14. Jámboř A., Molnár-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride // J. Chromatography A. – 2009. – V. 1216, Is. 34. – P. 6218–6223. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.06.083>

References

1. Ban K. A., Minei J. P., Laronga C. et al. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: Surgical Site Infection Guidelines // J. Am. Coll. Surg. – 2017. – V. 224, Is. 1. – P. 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2016.10.029>
2. Nahaychuk V. I. Suchasni pidkholdy do dopomohy patsiyentam z opikamy. – Rezhym dostupu: www.health-medix.com/articles/mistestvo/2010-05-27/10VINHZO.pdf
3. Vlasenko I. O., Davtian L. L. Active pharmaceutical ingredients in dermatological medicines of Ukrainian pharmaceutical market // Farmats. zh. – 2019. – № 1. – S. 9–19. – Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/pharmazh_2019_1_3. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.19.01>
4. Iakovlieva L. V., Koshova O. Y., Tkachova O. V. et al. Immunomodulatory properties of the cryopreserved pigskin substrate in an experiment // Asian J. Pharm. – 2018. – N 12 (2). – P. S545–S552. <http://dx.doi.org/10.22377/ajp.v12i02.2390>
5. Kramar S. B., Volkov K. S. Histological and histochemical changes in the damaged area of skin in the dynamics after experimental thermal trauma // Visn. problem biolohiyi i medytsyny. – 2014. – № 4. – S. 231–235.
6. Kramar S., Volkov K., Nebesna Z. Morphometric studies of the damaged skin area after experimental thermal trauma and during correction with a cryo-lyophilized xenograft skin substrate // Reports of Morphology. – 2018. – N 24 (4). – P. 22–28. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24\(4\)-03](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2018-24(4)-03)
7. Nebesna Z. M., Lisnychuk N. Y., Demkiv I. Y. Dynamika zmin oksygeno-vidnovnykh reaktsiy v tkanyni lehen' za umov opikovoyi travmy ta pry yiyi korektsiyi substratom liofilizovanoyi ksenoshkiry // Visn. problem biolohii i medytsyny. – 2015. – Vyp. 4, V. 1 (124). – S. 124–128.
8. Romanyuk T. I. Ul'trastrukturni osoblyvosti reparatyvnykh zmin u rohivtsi kroliv pislya yiyi opikiv luhom ta korektsiyi ekstraktom krioliofilizovanoyi shkiry svyni // Visn. problem biolohii i medytsyny. – 2015. – № 1 (117). – S. 231–235.
9. Vons B. V., Melnyk Y. Y., Hroshovyi T. A. ta in. Reolohichni doslidzhennya helyu, shcho mistyt' vodnyy vytyah z ksenodermy, dlya mistsevoho likuvannya opikiv // Farmats. zh. – 2019. – № 2. – S. 30–35. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123731>
10. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. / DP «Ukrayins'kyi naukovyy farmakopeynnyy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv» – 2 vyd. – Kharkiv: DP pidpryyemstvo «Ukrayins'kyi naukovyy farmakopeynnyy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv», 2015. – T. 1. – 1128 s.
11. GOST 22524–77 Piknometry steklyannye. Tekhnicheskyye usloviya. Goronovskiy I. T., Nazarenko Yu. P., Nekryach Ye. F. Kratkiy spravochnik po khimii. – K.: Naukova dumka, 1977. – 883 s.
12. Borschevskiy G. I., Seredynskaya N. N. Mozhlyvist' stvorenniya orhanopreparativ na osnovi peptydnykh kompleksiv // Farmats. zh. – 2013. – № 5. – S. 58–67.
13. Jámboř A., Molnár-Perl I. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study // J. Chromatogr. A. – 2009. – V. 1216, Is. 15. – P. 3064–3077. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.01.068>
14. Jámboř A., Molnár-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride // J. Chromatogr. A. – 2009. – V. 1216, Is. 34. – P. 6218–6223. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.06.083>

Надійшла до редакції 12 липня 2020 р.
Прийнято до друку 14 серпня 2020 р.

Б. В. Павлюк ¹ (<http://orcid.org/0000-0003-1276-0114>),
Ю. Я. Мельник ² (<http://orcid.org/0000-0002-8516-9926>),
Т. А. Грошовий ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-6427-2158>),
М. Б. Чубка ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-5666-5496>),
В. Й. Скорохода ² (<http://orcid.org/0000-0002-2352-5964>)

¹ Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

² Національний університет «Львівська політехніка»

ДОСЛІДЖЕННЯ ВОДНОГО ВИТЯГУ З КСЕНОДЕРМИ ЯК АКТИВНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ІНГРЕДІЄНТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Ключові слова: ксенодерма, водний витяг, амінокислоти, густина, в'язкість
АН О Т А Ц І Я

На сьогодні одними з найпоширеніших видів травм у побуті та на виробництві в усьому світі є опіки. Тому питання лікування опіків залишається актуальним для медицини загалом та фармації зокрема.

В Україні застосовують метод лікування опіків із використанням ксенодермоімплантатів із шкіри свині, а тому подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині (ксенодерма) є перспективним активним фармацевтичним інгредієнтом у технології лікарських засобів різних форм випуску з широким спектром фармакологічної активності.

Метою нашого дослідження стало вивчення структурно-механічних властивостей водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми, який одержаний за відповідною технологією, та визначення його амінокислотного складу фізико-хімічним методом аналізу, а саме з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Для визначення густини та в'язкості водного витягу з ксенодерми використовували скляний пікнометр і вискозиметр із падаючою кулькою Гепплера ВН 2 MLW. Густину та в'язкість водного витягу вивчали за різних температур.

Досліджено залежність густини та в'язкості водного витягу від температури та встановлено, що з підвищенням температури динамічна в'язкість зменшується, а густина змінюється незначно.

Хроматографічне визначення амінокислот здійснювали на рідинному хроматографі Agilent 1200 (США) із флуоресцентним детектором G1315A (США) та автосамплером 1313A.

Методом ВЕРХ ідентифіковано 16 амінокислот (6 – замінних, 2 – умовно замінних, 8 – незамінних). Ідентифіковані амінокислоти знаходяться практично у зв'язаному стані (1,5%), при цьому в найбільшій кількості перебувають глутамінова кислота (0,23%), гліцин (0,19%), аспарагінова кислота (0,18%), пролін (0,17%) та аргінін (0,17%). У незв'язаному вигляді найбільшим є вміст глутамінової кислоти (0,09%) та гліцину (0,06%). Визначено, що у вільному стані вміст амінокислот коливається в межах від 0,08 до 0,95 мг/г залежно від представника, а у зв'язаному – від 0,01 до 2,36 мг/г, при цьому накопичується найбільше глутамінової кислоти.

На підставі результатів виконаних досліджень можна вибрати показники якості, визначити відповідні їх критерії, які можна запропонувати для стандартизації водного витягу з подрібненого субстрату ксенодерми.

Б. В. Павлюк ¹ (<http://orcid.org/0000-0003-1276-0114>),
Ю. Я. Мельник ² (<http://orcid.org/0000-0002-8516-9926>),
Т. А. Грошовий ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-6427-2158>),
М. Б. Чубка ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-5666-5496>),
В. Й. Скорохода ² (<http://orcid.org/0000-0002-2352-5964>)

¹ Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины

² Национальный университет «Львовская политехника»

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ КСЕНОДЕРМЫ КАК ДЕЙСТВУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Ключевые слова: ксенодерма, водное извлечение, аминокислоты, плотность, вязкость
АН Н О Т А Ц И Я

Сегодня одними из самых распространенных видов травм в быту и на производстве во всем мире являются ожоги. Поэтому вопросы лечения ожогов остаются актуальными для медицины вообще и фармации в частности.

В Украине применяется метод лечения ожогов с использованием ксенодермоимплантатов из кожи свиньи, и поэтому измельченный субстрат кріоліофілізованої шкіри свині (ксенодерма) является перспективным действующим веществом в технологии различных форм препаратов.

Целью нашего исследования явилось изучение структурно-механических свойств водной вытяжки из измельченного субстрата ксенодермы, который получен по соответствующей технологии, и определение его аминокислотного состава физико-химическим методом анализа, а именно с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Для определения плотности и вязкости водной вытяжки из ксенодермы использовали стеклянный пикнометр и вискозиметр с падающим шариком Гепплера ВН 2 MLW. Плотность и вязкость водной вытяжки изучали при различных температурах.

Исследована зависимость плотности и вязкости водной вытяжки от температуры и установлено, что с повышением температуры динамическая вязкость уменьшается, а плотность меняется незначительно.

Хроматографическое определение аминокислот выполняли на жидком хроматографе Agilent 1200 (США) с флуоресцентным детектором G1315A (США) и автосамплером 1313A.

Методом ВЭЖХ идентифицировано 16 аминокислот (6 – заменимых, 2 – условно заменимых, 8 – незаменимых). Идентифицированные аминокислоты находятся практически в связанном состоянии (1,5%), при этом в большом количестве находятся глютаминовая кислота (0,23%), глицин (0,19%), аспарагиновая кислота (0,18%), пролин (0,17%) и аргинин (0,17%). В несвязанном виде крупнейшим является содержание глютаминовой кислоты (0,09%) и глицина (0,06%). Определено, что в свободном состоянии содержание аминокислот колеблется в пределах от 0,08 до 0,95 мг/г в зависимости от предшественника, а в связанном – от 0,01 до 2,36 мг/г, при этом накапливается больше глютаминовой кислоты.

На основании результатов проведенных исследований можно выбрать показатели качества, определить соответствующие их критерии, которые можно предложить для стандартизации водной вытяжки из измельченного субстрата ксенодермы.

B. V. Pavliuk ¹ (<http://orcid.org/0000-0003-1276-0114>),
Yu. Ya. Melnyk ² (<http://orcid.org/0000-0002-8516-9926>),
T. A. Hroshovyi ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-6427-2158>),
M. B. Chubka ¹ (<http://orcid.org/0000-0002-5666-5496>),
V. Y. Skorokhoda ² (<http://orcid.org/0000-0002-2352-5964>)

¹ *Horbachevsky Ternopil National Medical University*

² *Lviv Polytechnic National University*

RESEARCH OF WATER EXTRACTION FROM XENODERM AS AN ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT IN DRUGS

Key words: xenoderm, water extract, amino acids, density, viscosity

ABSTRACT

Today, burns are one of the most common types of injuries in the home and at work around the world. Therefore, the issue of treatment of burns remains relevant today for medicine and pharmacy in particular.

In Ukraine, the method of treatment of burns using xenoderm implants from porcine skin is used, and therefore the crushed substrate of cryolyophilized porcine skin (xenoderm) is a promising active ingredient in the technology of various drug forms.

The aim of the work was to study the structural and mechanical properties of water extract from the crushed substrate of the xenoderm and to determine its amino acid composition by using physicochemical analysis, namely using high performance liquid chromatography (HPLC).

A glass pycnometer and a Hepler BH 2 MLW drop ball viscometer were used to determine the density and viscosity of the water extract from the xenoderm. The density and viscosity of the water extract were studied at different temperatures.

The dependence of the density and viscosity of the water extract from the xenoderm on temperature was studied and it was found that with increasing temperature the dynamic viscosity decreases and the density changes slightly.

A glass pycnometer and a viscometer with falling ball were used to determine the density and viscosity of the xenoderm water extract. Chromatographic separation of amino acids was performed on a liquid chromatograph Agilent 1200 with a fluorescent detector.

Chromatographic determination of amino acids was performed on a liquid chromatograph Agilent 1200 (USA) with a fluorescent detector G1315A (USA) and an autosampler 1313A.

Using the HPLC method, 16 amino acids were identified (essential – 6; conditionally – 2; nonessential – 8). Identified amino acids are almost in a bound state (1.5%), the largest amount is glutamic acid (0.23%), glycine (0.19%), aspartic acid (0.18%), proline (0.17%) and arginine (0.17%). In unbound form, the content of glutamic acid (0.09%) and glycine (0.06%) is the highest.

Based on the results of research, you can choose quality indicators, to determine the appropriate criteria that can be proposed for the standardization of water extract from the crushed substrate of the xenoderm.

*Електронна адреса для листування з авторами: bohdana.vons@gmail.com
(Павлюк Б. В.)*