

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
ЖУРНАЛ № 2

Двомісячний
науково-практичний журнал

ЗАСНОВАНИЙ 1928 р.
БЕРЕЗЕНЬ – КВІТЕНЬ

2010 ● Київ

ДП «Державний фармацологічний центр»

ЗМІСТ

МЕНЕДЖМЕНТ, МАРКЕТИНГ ТА ЛОГІСТИКА У ФАРМАЦІЇ

- Посилкіна О.В., Козирєва О.В. Теоретичні аспекти ідентифікації інтелектуального капіталу фармацевтичного підприємства 3

- Шестопал О.А., Підпружникова Ю.В. Оптимізація робіт з валідації технологічного процесу виробництва стерильних лікарських засобів 10

- Білоус С.Б., Калинюк Т.Г., Гудзь Н.І. Актуальні питання фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів для зовнішнього застосування 16

ПРАВОВЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ

- Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Сорокін О.І., Рудика М.П. Фармацевтичне право: судово-фармацевтичне вивчення причинно-наслідкових зв'язків між пивним алкоголізмом, протиправними діями, розладами здоров'я та медико-фармацевтичною допомогою на підставі доказової фармації 27

ЮВІЛЕЙ

- Привітання професору Олексію Павловичу Вікторову 33

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

- Георгіянц В.А., Банни Н.І., Савченко В.М., Баний І.П. Синтез, гостра токсичність та біологічні властивості γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот та γ -(R-бензольсульфонілоксамідо)-бутанових кислот 34

- Ісаєв С.Г., Близнюк О.А., Павлій О.О. Алексєєва Л.М., Шевельєва Н.Ю. Синтез, будова та біологічна активність алкіл- та ариламідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти 40

- Тимошик Ю.В., Петренко В.В. Спектрофотометричне визначення німодепіну за його реакцією з гідроксидом натрію та валідаційна характеристика методики 45

- Каплаушенко А.Г., Панасенко О.І., Книш Є.Г., Васюк С.О., Тарханова О.О. Розробка методу кількісного аналізу основної речовини і можливих домішок у субстанції морфолін-2-(5-(4-піridил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату 49

- Шкроботько П.Ю., Попов Д.М., Фурса М.С. Кількісне визначення складних ефірів біологічно активних сполук у настоянках валеріан різних виробників 54

- Цуркан О.О., Колядич О.П., Бобкова Л.С., Шкляєв С.А. Стандартизація методики кількісного визначення галотранку в таблетованій лікарській формі 58

- Давтян Л.Л., Тарасенко В.О. Фармакокінетичні показники лікарських плівок з контролюванням вивільненням діючих речовин 62

- Бойко М.О., Гладких О.І., Кустова С.П. Роль допоміжних речовин у досягненні біологічної активності м'якої лікарської форми фенсуциналу 66

- Половко Н.П. Вивчення реологічних властивостей гелю з біфоназолом 70

- Крилова О.В. Порівняльна фармакокінетика нового потенційного церебропротектора ВІТІН-1 на етапі абсорбції в нормі і при церебральній ішемії 73

- Мосула Л.М., Зіменковський Б.С., Огурцов В.В., Гаврилюк Д.Я., Драпак І.В., Лесик Р.Б. Протипухлинина активність та QSAR-аналіз похідних роданіну зベンзіазольним фрагментом у молекулах 77





Шаповал О.М. Вивчення периферичної анальгетичної дії нового препарату «Анальбен-ретард» порівняно з сучасними нестероїдними протизапальними засобами	84
Яковлєва Л.В., Музика Н.Я., Лар'яновська Ю.Б., Мачуліна С.О. Вплив супозиторіїв «Альтабор» на структуру передміхурової залози в умовах експериментального простатиту у щурів.....	88
Деркачевська В.В. Вплив корвітину на стан аденілнуклеотидної системи у щурів із каловим перитонітом	93
Бензель І.Л., Дармограй Р.Є., Бензель Л.В. Дослідження вмісту аскорбінової та вільних органічних кислот у фітосубстанціях бадану товстолистого	98
Тернінко І.І. Вивчення компонентного складу ефірних олій плодів коріандру та кмину, що зростають в екосистемі Донбасу	102
Болотов В.В., Безуглій П.О., Маміна О.О., Гарная Н.В., Головченко О.С. Скринінг сечі на наявність речовин основного характеру із застосуванням тимолового синього.....	105

До відома авторів! Змінилася адреса редакції журналу!

Наша адреса: 03057, м. Київ-57,
вул. Ежена Потьє, 14, кімната 205.
Тел./факс (+38044) 536-13-37.

Свідоцтво про реєстрацію КВ № 1004 від 17 жовтня 1994 р.

Журнал включено до переліку видань, визнаних ВАК України

Засновники: Міністерство охорони здоров'я України; Національний фармацевтичний університет МОЗ України; ДП «Державний фармакологічний центр»; ДП «Державний науковий центр лікарських засобів»; Українське об'єднання «Укрфармація»

Розрахунковий рахунок журналу: ДП «Державний фармакологічний центр» МОЗ України
ЄДРПОУ 20015794, р/р 2600819200 в АБ «Укргазбанк», м. Київ, МФО 320478

ІПН 200157926550, номер свідоцтва 37731987. Є платником податку на прибуток на загальних підставах.
На видання журналу «Фармацевтичний журнал».

Адреса: 03151, м. Київ, вул. Ушинського, 40. тел./факс: (044) 498-43-61.

Фармацевтичний журнал № 2, березень—квітень, 2010. Двомісячний науково-практичний журнал.
Заснований у 1928 р. ДП «Державний фармакологічний центр» МОЗ України. 03151, м. Київ, вул. Ушинського, 40.

Редактор відділу *T.K. Семенюк*. Коректор *O.M. Романенко*. Верстка *I.M. Трубак*.

Здано до набору 19.03.2010. Підписано до друку 16.04.2010. Формат 70x108¹/16. Папір офсет.
Ум.-друк. арк. 10,96. Обл.-вид. арк. 13,3. Зам. 10-218.

Адреса редакції: 03057, Київ-57, вул. Ежена Потьє, 14, кім. 205. Тел./факс 536-13-37.
Офіційний сайт «Фармацевтичного журналу»: <http://www.pharmjournal.info>

ЗАТ «ВІПОЛ», ДК № 15, 03151, Київ-151, вул. Волинська, 60.

УДК 608.3+347.77; 615.849.002.2

О.В.ПОСИЛКІНА, д-р фармац. наук, проф., О.В.КОЗИРЕВА, канд. економ. наук,
доцент

Національний фармацевтичний університет

ТЕОРЕТИЧНІ АСПЕКТИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОГО КАПІТАЛУ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ПІДПРИЄМСТВА

Ключові слова: капітал, інтелект, фармацевтичне підприємство, людський капітал, інтелектуальний капітал

Постановка проблеми. Інформатизація та інтелектуалізація суспільства взагалі і фармацевтичної галузі зокрема зумовлюють відповідні зміни в характері господарювання, які характеризуються підвищеннем ролі нематеріальних активів фармацевтичних підприємств (ФП), розширенням сфери застосування комунікаційних систем, зростанням питомої ваги витрат на інформацію та знання в собівартості фармацевтичної продукції. В західних фармацевтичних компаніях (ФК) інтелектуальний капітал поступово набуває дедалі більшого значення порівняно з традиційними факторами виробництва та фінансовими ресурсами.

Аналіз причин, що спонукали провідні ФК розпочати дослідження в галузі інтелектуального капіталу, свідчить, що всі вони сфокусовані в напрямі забезпечення майбутнього стабільного розвитку. Як свідчать дослідження, ФК, що інтенсивно займаються комерціалізацією власного інтелектуального капіталу, мають найбільшу ринкову додаткову вартість (табл. 1) [1].

Таблиця 1

Показник ринкової додаткової вартості у провідних транснаціональних корпораціях

Компанія	Ринкова додаткова вартість, млн.дол.	Сукупний дохід інвесторів, %
«Merk»	31467	25,1
«Procter & Gamble»	27830	19,3
«Johnson & Johnson»	24699	22,4

Тому управління інтелектуальним капіталом сьогодні має стати найважливішим елементом стратегії ФП – лідерів вітчизняного фармацевтичного ринку, що сприятиме підвищенню їх ділової репутації, залученню потенційних інвесторів, удосконаленню інноваційної стратегії, підвищенню соціальної відповідальності, поліпшенню фінансових результатів діяльності та ін. Ці обставини вимагають детального дослідження такої економічної категорії, як інтелектуальний капітал ФП.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

У світовій науці можна виділити кілька напрямів дослідження інтелектуального капіталу. Фундаментальні основи використання інформації та знань як факторів виробництва були розроблені у працях К.Маркса, А.Маршалла, П.Хейне, Й.Шумпетера та ін. Серед досліджень з питань управління інтелектуальними ресурсами заслуговують на увагу праці К.Менара, Д.Норта, Р.М.Нуреєва, Р.Коуза, Л.Тевена, О.Фавора, Ф.А.фон Хайека, А.Шастітка. Значний внесок у розвиток теоретичних та науково-методичних засад управління інтелектуальним капіталом підприємства зробили Е.Брукінг, В.Гойло, Б.Б.Леонтьєв, В.С.Пономаренко,

Т.Стюарт та ін. Окремі аспекти дослідження складових інтелектуального капіталу ФП висвітлено у працях В.А.Загорія, З.М.Мнушко, О.П.Півень, М.С.Пономаренка, О.В.Посилкіної, В.В.Страшного, В.М.Тіманюк [5, 7, 9, 10, 12].

Невирішенні частини загальної проблеми

Незважаючи на велику кількість наукових праць та значні досягнення в галузі обґрунтування теоретичних основ управління інтелектуальним капіталом, низка завдань вимагає уточнення та розвитку з урахуванням специфіки фармацевтичного виробництва. До таких питань, зокрема, належать: визначення змісту та складу інтелектуального капіталу ФП, розробка науково-обґрунтованих методик щодо його оцінювання та формування, аналіз реального стану використання нематеріальних активів ФП та деякі інші.

Метою дослідження є узагальнення та розвиток теоретичних аспектів формування інтелектуального капіталу ФП та розробка методичних засад його оцінювання.

Виклад основного матеріалу дослідження

Підвищений науково-практичний інтерес до концепції інтелектуального капіталу є відображенням нових викликів постіндустріального суспільства з його пріоритетними цілями соціально-економічного зростання. Багаторазове перевищення ринкової вартості провідних зарубіжних та вітчизняних ФК над їхньою балансовою вартістю свідчить про істотні приховані нефінансові активи, про недооцінені знання менеджерів та працівників, ділову репутацію підприємства та ін. У розвинутих країнах частка секторів економіки з інтенсивним використанням інтелектуального капіталу сьогодні сягає понад 50 %, чим і пояснюється вагомий вплив об'єктів інтелектуальної власності на динаміку ВВП (їхня питома вага у приrostі ВВП становить 80–95 %) і зростання фінансових результатів. Моніторинг стану інтелектуального капіталу в постіндустріальних країнах у контексті зміни їхньої конкурентоспроможності здійснюється не тільки окремими компаніями, але і на рівні уряду. Наприклад, з 2003 р. у проекті датського уряду, розробленому ще в 1997 р., беруть участь понад 100 датських організацій, що складають щорічні звіти про стан інтелектуального капіталу компанії. Це зумовлює необхідність ґрунтовного дослідження сутності інтелектуального капіталу та його окремих складових.

Як економічну категорію «капітал» трактують по-різному: як створені людиною ресурси, що використовують для виробництва товарів та послуг; як суму накопичених матеріальних благ; як певні суспільні відносини [7–15]. Із розвитком економічної думки ця категорія набуvalа нових ознак, і наприкінці ХХ ст. «капітал» стали пов'язувати не тільки з грошима й засобами експлуатації, але і з певними спроможностями людини.

Як наслідок об'єктивних змін, пов'язаних із соціалізацією та інформатизацією суспільства, виникли категорії «людський капітал», а згодом й «інтелектуальний капітал».

Одними із перших дослідників, які дали досить широке трактування інтелектуального капіталу, були американські вчені Л.Едвінссон та М.Мелоун. Вони відносили до цієї категорії фактично всі види ресурсів сучасної корпорації, які не піддаються традиційним оцінюванням. Доводячи неоднорідність складу інтелектуального капіталу, дослідники стверджують, що до нього включаються «...знання, які невід'ємні від людини, і саме люди, які ними володіють і розпоряджаються. Інша частина цього капіталу утворює свого роду об'єктивні умови застосування цих знань для підвищення ефективності та конкурентоспроможності фірми...» [13]. Йдеться про технічне і програмне забезпечення, організаційні структури, патенти, торгові марки, тобто все те, що дає можливість працівникам підприємства реалізувати свій потенціал.

Е.Брукінг поділяє інтелектуальний капітал на такі складові: інтелектуальна власність, людські та інфраструктурні активи [12]. На наш погляд, підхід британського вченого є більш грунтовним, оскільки він дає можливість зрозуміти різну природу та шляхи формування всіх складових інтелектуального капіталу.

Сьогодні структуру інтелектуального капіталу вченими чітко не визначено. Так, В.С.Єфремов характеризує інтелектуальний капітал як знання, які має організація та які виражені у зрозумілій та недвозначній формі, що легко переноситься, наприклад, у формі програмного забезпечення [14].

М.Новіков поділяє інтелектуальний капітал на:

- обізнаність чи власну торгову марку (awareness or brand equity), що включає репутацію, традиції, імідж, зовнішній вигляд та інші фактори, які спонукають людей купувати речі, додаючи їм додаткової цінності;

- знання, що охоплюють освіту, навчальні курси, отримані навички, досвід і які допомагають людям працювати чи приймати рішення, додаючи цінності продукції, що вироблена з використанням інтелектуальної власності [18].

За Г.Роосом [17] інтелектуальний капітал — це:

- людський капітал — компетенції, інтелектуальна гнучкість мислення, позицій;

- організаційний капітал — усі організаційні, інноваційні процеси, інтелектуальна власність, культурні активи;

- відновлення і розвиток — нові патенти і програми підготовки;

- реляційний капітал — стосунки, які залишають до діяльності підприємства інші внутрішні і зовнішні зацікавлені особи чи структури.

Отже, як свідчить світова практика, інтелектуальний капітал — один із основних факторів, що визначає:

- конкурентоспроможність підприємства, високу динаміку його ринкової вартості та стратегічні ринкові позиції підприємства в конкурентному середовищі;

- перспективи збільшення кількості інтелектуально наповнених робочих місць за рахунок гармонізованого розвитку трьох вершин так званого «трикутника знань», а саме — освіти, досліджень та інновацій;

- темпи розвитку капіталізаційних процесів і економічної безпеки підприємства;

- основний зміст політики захисту бізнесу загалом та його інтелектуальної власності зокрема;

- істотні структурні зміни у вартості активів та пасивів у перспективному балансі виробника за умови трансферу технологій і продажу послуг кваліфікованих працівників;

- рівні еластичності всіх інших факторів виробництва через якісно нові структурно-функціональні форми їхньої взаємодії з інтелектуальним капіталом підприємства та ін. [8].

Проведені дослідження і врахування специфіки фармацевтичної галузі дали можливість обґрунтувати категорію «інтелектуальний капітал ФП» і визначити його основні утворювальні елементи (схема 1).

Отже з урахуванням особливостей фармацевтичної галузі пропонується розглядати інтелектуальний капітал ФП у трьох аспектах:

- як фактор виробництва (ресурсний склад);

- як об'єкт інтелектуальної власності ;

- як нематеріальний актив підприємства (об'єкт власності, ідентифікації та оцінювання).

З урахуванням вищенаведеного структура інтелектуального капіталу ФП має такий вигляд (схема 2).

Визначення структури інтелектуального капіталу дасть можливість оцінювати вплив його окремих структурних елементів на ринкову вартість ФП, що є досить важливою інформацією з точки зору інвесторів.

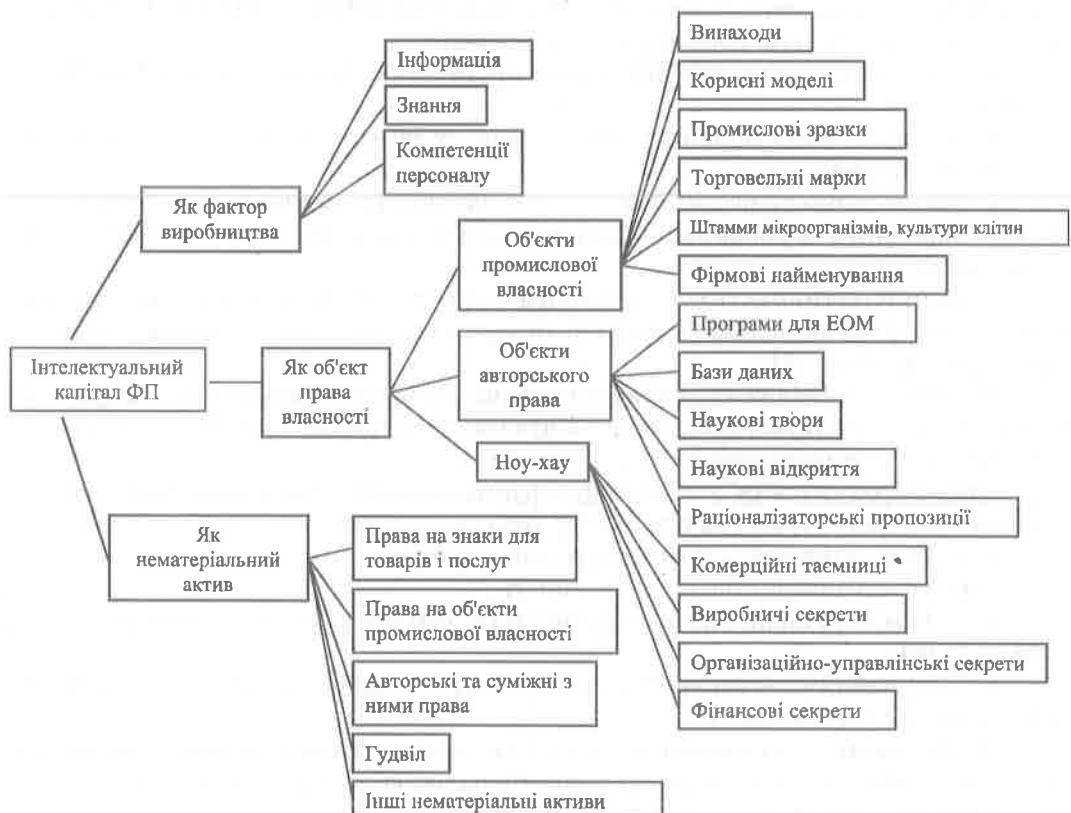
Схема 1

Схема логічного обґрунтування змісту категорії «інтелектуальний капітал ФП»



Схема 2

Структура інтелектуального капіталу ФП



Для визначення значущості складових інтелектуального капіталу ФП було використано метод експертного оцінювання, що базувався на розробці спеціальної анкети. При складанні анкети було обрано відповідну шкалу. На питання, поставлені в анкеті, респондентам пропонувалось обрати один із варіантів відповіді і присвоїти йому відповідний бал при інтервалі оцінки від 1 до 5. Оцінка 1 — «дуже вагома складова»; 2 — «вагома»; 3 — «невагома»; 4 — «зовсім не вагома»; 5 — відповідає варіанту «не знаю». У результаті експертного опитування було з'ясовано, як керівники і спеціалісти оцінюють вагомість різних складових інтелектуального капіталу ФП.

У ході обробки даних анкетного опитування відповіді респондентів було класифіковано залежно від статусу особи (вище керівництво, керівництво середньої ланки та провідні фахівці).

Попередній аналіз відповідей свідчить, що розподіл оцінок не можна нормально апроксимувати, тому обробка даних заповнених анкет проводилася на основі використання основних положень прикладної теорії вимірювань.

Відповідно до вищеприведеного було обрано такий алгоритм обробки даних, зібраних у процесі анкетування. Спочатку була підрахована сума балів за даними експертних відповідей. Потім цю суму було проранжировано, виходячи з принципу: чим більший ранг, тим нижча оцінка рангу. Тобто максимальний ранг привласнювався при найменшій сумі, ранг «1» — при найбільшій. У разі, коли суми за оцінюваннями ознаками були однакові, вони отримували середньоарифметичний бал.

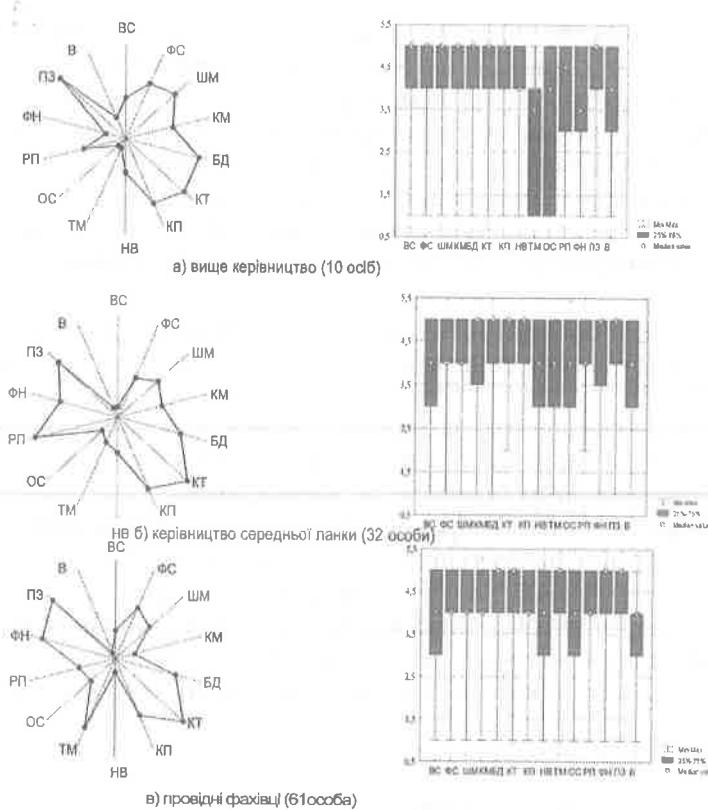
Таблиця 2
Експертні оцінки складових інтелектуального капіталу ФП

Умовне позначення	Характеристика	Категорія опитуваних					
		вище керівництво		керівництво середньої ланки		провідні фахівці	
		сума	ранг	сума	ранг	сума	ранг
ВС	Виробничі секрети	61	9	134	13,5	330	11
ФС	Фінансові секрети	66	6	149	9	347	7
ШМ	Штами мікроорганізмів	68	4	153	7	346	8
КМ	Корисні моделі	65	7	150	8	324	12
БД	Бази даних	69	2	156	5	354	5
КТ	Комерційні таємниці	69	2	170	1	385	1
КП	Програми для ЕОМ	68	4	157	4	351	6
НВ	Наукові відкриття, твори	60	10	144	10	316	13
ТМ	Торговельні марки	58	13	142	11	362	4
ОС	Організаційно-управлінські секрети	58	13	138	12	337	10
РП	Раціоналізаторські пропозиції	63	8	164	23	338	9
ФН	Фірмові найменування	59	11	154	6	370	3
ПЗ	Промислові зразки	70	1	159	3	372	2
В	Винаходи	59	11	134	13,5	291	14

У табл. 2 наведено ранги, що було присвоєно залежно від розміру загальної суми оцінених співробітниками складових інтелектуального капіталу ФП.

Для визначення ступеня узгодженості думок опитуваних було використано блокові статистичні графіки — діаграми квартильного розмаху (рисунок).

За даними, що представлені на рисунку, можна зробити такі висновки. До структури інтелектуального капіталу ФП вище керівництво віднесло практично з одинаковою вагомістю такі складові: організаційно-управлінські секрети, торговельні марки, винаходи, фірмові найменування, наукові відкриття, виробничі та фінансові секрети, раціоналізаторські пропозиції.



Структура інтелектуального капіталу ФП залежно від статусу обробка та своєчасна передача необхідної інформації (нової та інноваційної та інших), з якою повсякденно працює вною складовою формування та розвитку інтелекту

Як свідчить міжнародна практика, послідовна реалізація політики, спрямованої на пріоритетний розвиток інтелектуальних складових діяльності ФП, сприятиме розвитку та модернізації виробництва, підвищенню рівня конкурентоспроможності. Тому в сучасних умовах необхідна переорієнтація концепції управління ФП на підвищення ролі саме інтелектуальної складової, розробку і впровадження нових інформаційно-комунікативних технологій, формування та розвитку інтелектуального капіталу.

Основною проблемою при цьому виявляється сприйняття керівниками різного рівня першочергової ролі інтелектуального капіталу для здобуття вітчизняними фармвиробниками конкурентних переваг як на вітчизняному, так і на зарубіжному ринку.

Висновки та перспективи подальших досліджень

Запропонований підхід до визначення структури інтелектуального капіталу ФП створює методологічне підґрунтя для його вартісного оцінювання та прогнозування майбутньої ринкової вартості, а також сприятиме розв'язанню суперечливості, пов'язаної з використанням у процесах виробництва таких ресурсів, як інформація, знання та компетенції персоналу. Вирішення цих аспектів буде представлено в наступних публікаціях.

1. Богачева Г.Н., Денисов Б.А. О многообразной трактовке категории «Капитал» // Менеджмент в России и за рубежом. — 2000. — № 1. — С. 13–24.
 2. Брукинг Э. Интеллектуальный капитал: Пер. с англ. / Под ред. Л.Н.Ковалик. — СПб.: Питер, 2001. — 288 с.
 3. Врублевський В., Мороз О., Саєнко Ю. Доктрина Кравчука. — К.: Інтелект. — 2001. — 42 с.

Керівництво середньої ланки має подібну до попередньої характеристики структуру інтелектуального капіталу, крім того, до його складу ними було віднесено штами мікроорганізмів, культури клітин, рослин та корисні моделі.

Для провідних фахівців, а їх відповіді становлять більшу частину (59 %) порівняно з керівництвом, характерна значна відмінність складових інтелектуального капіталу, а саме: включення програм для ЕОМ та баз даних. Ця відмінність може бути пояснена тим, що в сучасних умовах саме збирання, зберігання,

4. Ефремов В.С. Организации, бизнес-системы и стратегическое планирование // Менеджмент в России и за рубежом. – 2001. – № 2. – С. 3–26.
5. Загорій В.А., Огородник В.В., Сятиня М.Л. // Фармац. журн. -- 2002. -- № 2. -- С. 3–7.
6. Макконнелл К.Р., Брю С.Л. Экономикс: Принципы, проблемы и политика. В 2 т.: Пер. с англ. Т. 2. – Баку: Азербайджан, 1992. – 400 с.
7. Мнушко З.М., Вінник О.Ю., Страшний В.В. // Вісн. фармац. -- 1998. -- № 2. -- С. 92 – 96.
8. Новиков М. Экономика интеллектуальной собственности // Мир Internet. – 1999. – № 5 (32) // <http://www.iworld.ru/>.
9. Пиевень Е.П. // Фармаком. – 2004. – № 2. -- С. 93–99.
10. Пономаренко М.С., Загорій В.А., Огородник В.В. // Вісн. фармац. – 2002. – № 6. – С. 4–7.
11. Посилкіна О.В., Тіманюк В.М. Управління процесами комерціалізації інтелектуальної власності у фармацевтичній галузі: Методичні рекомендації. – Х.: Вид-во НഫаУ, 2003. – 23 с.
12. Посилкіна О.В., Тіманюк В.М. Актуальність розвитку процесів комерціалізації інтелектуальної власності у фармації // Пріоритети організаційно-економічної науки та освіти у розвитку вітчизняної фармації. Матеріали наук.-практ. конф. (3–4 березня 2005 р., м. Харків). – Х.: Вид-во Н菲律аУ, 2005. – С. 135–140.
13. Рикардо Д. Сочинения. Т 2. Начала политической экономии и налогового обложения. – М.: Госполитиздат, 1955. – 360 с.
14. Смит А. Исследование о природе и причинах богатства народов (книги I–III). – М.: Наука, 1992. – 572 с.
15. Томас А. Стюарт. Интеллектуальный капитал. Новый источник богатства организаций / Пер. с англ. В. Ноздриной. – М.: Поколение. 2007. – 368 с.
16. Учебник по основам экономической теории (экономика). / Камаев В.Д. и др. – М.: ВЛАДОС, 1997. – 380 с.
17. Шумпетер Й. Теория экономического развития. (Исследование предпринимательской прибыли, капитала, кредита, процента и цикла конъюнктуры): Пер с нем. – М.: Прогресс, 1982. – 256 с.
18. Andrew Gowers. Gowers Review of Intellectual Property. // Her Majesty's Treasury. – 2006. – № 12. – Р. 13–21.

Надійшла до редакції 08.12.2009.

O.B.Посылкина, E.B.Козырева

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОГО КАПИТАЛА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

Ключевые слова: капитал, интеллект, фармацевтическое предприятие, человеческий капитал, интеллектуальный капитал

В статье предложена структура интеллектуального капитала фармацевтического предприятия, которая базируется на его рассмотрении в трех аспектах: как фактора производства, с точки зрения отношений собственности и объекта владения, идентификации и оценки. Использование предложенного подхода к определению структуры интеллектуального капитала фармацевтического предприятия позволит идентифицировать его структурные составляющие и осуществлять его стоимостную оценку, являющуюся важным элементом гудвила.

O.B.Posilkina, O.B.Kozireva

THEORETICAL ASPECTS OF IDENTIFICATION OF INTELLECTUAL CAPITAL OF PHARMACEUTICAL ENTERPRISE

Key words: capital, intellect, pharmaceutical enterprise, . human capital , intellectual capital

SUMMARY

The structure of intellectual potential of pharmaceutical enterprise which is based on his consideration in three aspects is offered in the article: in quality of factor of production, from the point of view the relations of propert of, як object of domain, authentication and estimation. The use offered approach near determination of intellectual capital of pharmaceutical enterprise structure will allow to identify him structural constituents and to carry out him cost estimation.

О.А.ШЕСТОПАЛ, здобувач, Ю.В.ПІДПРУЖНИКОВ, д-р фармац., наук, проф.
ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод»,
Національний фармацевтичний університет

ОПТИМІЗАЦІЯ РОБІТ З ВАЛІДАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ВИРОБНИЦТВА СТЕРИЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Ключові слова: валідація, аналіз ризиків, технологічний процес, критерії значущості

Постановка проблеми. Сучасне виробництво стерильних лікарських засобів є сукупністю багатьох складових. Для забезпечення їх відповідної якості застосовують останні досягнення науково-технічного прогресу у фармацевтичній, біологічній та технічній сферах діяльності. Належним чином організована валідація технологічних процесів є невід'ємною частиною системи забезпечення якості лікарського засобу та є своего роду гарантом надійності технологічного процесу, його стабільності та відтворюваності [1, 2, 4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Аналізуючи нормативні документи щодо забезпечення належної якості фармацевтичної продукції, можна зробити висновок, що вимоги GMP стосовно технічних засобів та систем, обладнання і технологічних процесів, а також аналітичних методик передбачають постійне забезпечення якості готової продукції значною мірою за рахунок проведення валідації [3, 5, 7]. Таким чином, валідація розглядається як дієвий інструмент забезпечення якості. Проведення валідації передбачає систематичний аналіз процесів, систем та обладнання, метою якого є підтвердження виконання всіх визначених процесів та їх параметрів. У той же час визначення елементів або дій всередині самих систем чи процесів, що роблять їх потенційно вразливими, здійснюється за допомогою аналізу ризиків. Важливо відзначити, що аналіз ризиків стає одним із елементів сучасних інтегрованих систем якості. Він розглядається як якісний чи кількісний процес поєднання вірогідності випадку та рівня можливої шкоди [6].

Виділення невирішених частин загальної проблеми

Як правило, валідація розглядається як окремий процес у загальній структурі процесів підприємства, який має повністю охоплювати технологічні процеси, виробниче обладнання та системи, що використовуються при виробництві лікарських засобів на конкретній дільниці чи підприємстві в цілому. Незважаючи на наявність значної кількості нормативних документів з валідації та керівних інструкцій, у них, зазвичай, відсутні практичні рекомендації щодо втілення цілісної політики в галузі валідації. Фрагментарне застосування викладених у стандартах підходів та потреба у значній кількості ресурсів на практиці не дає можливості одночасно провести валідацію всіх об'єктів, визначених у генеральному валідаційному плані згідно з політикою в галузі валідації. У цих умовах особливо для підприємств, що тільки розпочинають роботи з валідації, актуальним стає завдання встановлення черговості виконання робіт з валідації технологічних процесів та визначення їх необхідного обсягу для ефективного використання наявних ресурсів та забезпечення належної якості виготовленої продукції.

Формуловання мети статті. Метою цієї роботи є визначення критичних аспектів для формування загального підходу щодо проведення валідації технологічних процесів, який дав би можливість обґрунтовано встановити об'єкти валідації при виробництві стерильних лікарських засобів та черговість їх валідації.

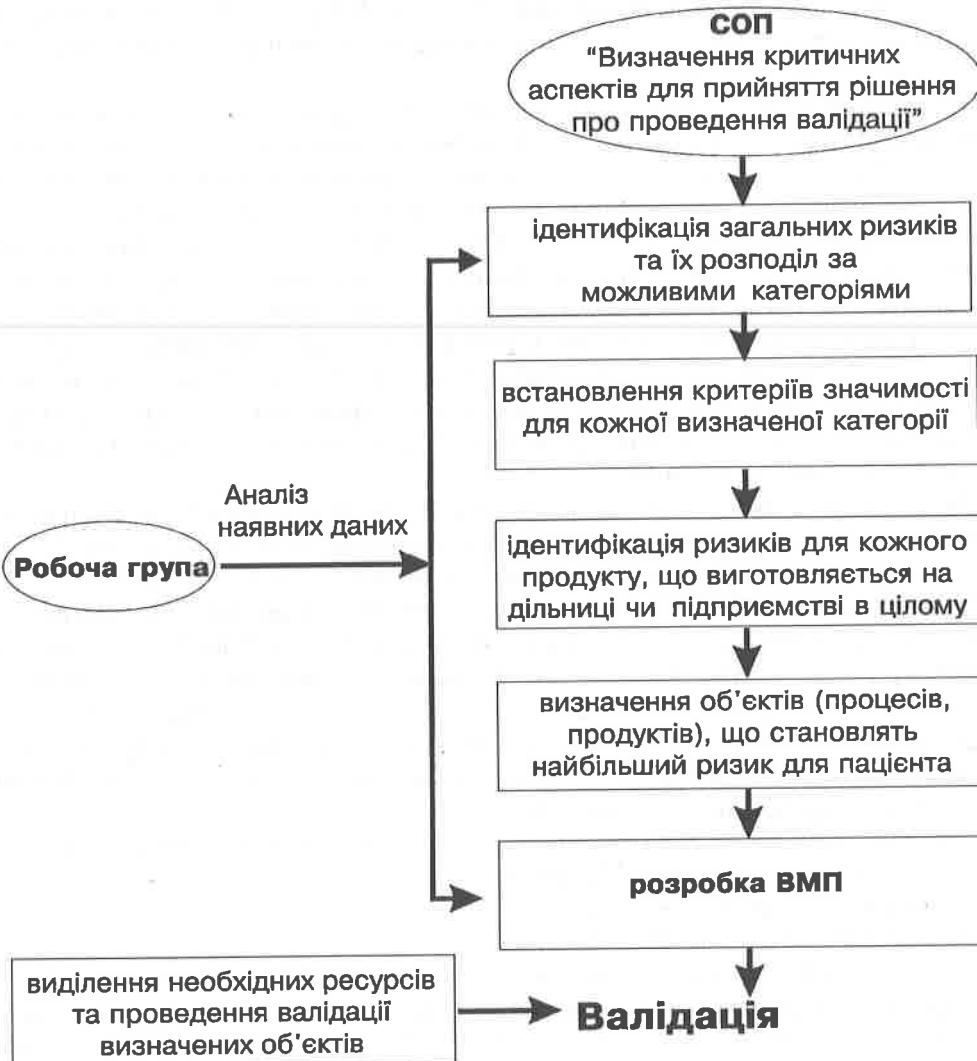
Виклад основного матеріалу

Розглянемо діяльність фармацевтичного підприємства з точки зору встановлення пріоритетів при організації проведення робіт з валідації. Саме питання, що валідувати, насамперед стає надзвичайно важливим на етапі розробки та впровадження політики у галузі валідації та розробки генерального валідаційного плану.

На нижченнаведеній схемі зображенено розроблений алгоритм визначення критичних аспектів для прийняття рішення про проведення валідації.

Схема

Алгоритм визначення критичних аспектів



Методологічною основою запропонованого алгоритму є:

1. Ідентифікація загальних ризиків та їх розподіл за можливими категоріями.
2. Розробка критеріїв значущості дляожної визначеної категорії.
3. Ідентифікація ризиків для кожного продукту, що виготовляється на дільниці чи підприємстві у цілому.
4. Визначення об'єктів (процесів, продуктів), що становлять найбільший ризик для пацієнта.
5. Виділення необхідних ресурсів та проведення валідації визначених об'єктів.

Таким чином метою проведення аналізу ризиків, пов'язаних з процесом/продуктом, у тому числі, є обґрутування валідаційних дій.

Для стерильних лікарських засобів доцільно ідентифікувати загальні ризики за нижченаведеними категоріями:

- медичне застосування препарату (шлях введення, широта застосування, у тому числі при невідкладній допомозі, застосування у педіатрії і т.ін.);
- оригінальний чи генеричний лікарський засіб (наявність інформації щодо фізико-хімічних, біологічних властивостей препарату та його компонентів, її доступність);
- досвід виробництва препарату (нове впровадження чи перенесення на іншу дільницю, внесення змін, наявність реклами);
- особливості технологічного процесу (стадії процесу із визначенням критичних параметрів, у тому числі підлягає продукт стерилізації чи виготовляється в асептичних умовах і т.ін.).

При проведенні аналізу можливих ризиків слід враховувати не лише безпосередній вплив, що є очевидним на момент проведення аналізу, а також вплив, що може виникнути з часом. Це може стосуватися як негативного впливу на якість конкретного продукту, так і впливу на загальний імідж підприємства.

Для найповнішого аналізу даних рекомендується до складу групи фахівців, що займатимуться ідентифікацією ризиків, включати спеціалістів, що були безпосередньо задіяні у розробці лікарського засобу та його впровадженні, досконально знають його властивості та особливості ведення технологічного процесу (спеціалісти дослідно-впроваджувальної лабораторії, відділів клінічного забезпечення, валідації, контролю якості, забезпечення якості та фахівців виробничої дільниці). Перед початком проведення такої роботи необхідно мати детальні документи щодо оцінюваного лікарського засобу.

Критерії значущості (ступеня ризику) для кожної визначеної категорії можуть бути встановлені окремо або мати загальний характер (наприклад, низький, середній, високий). Вплив можна вважати низьким, якщо він має короткостроковий характер та незначний негативний ефект; високим — навпаки, якщо негативний вплив досить значний (може мати або не мати довгостроковий характер). Для кожного критерію, ступінь впливу якого визначено як «низький», встановлено бал, рівний «1», відповідно — «середній» — «2», «високий» — «3» (див. табл. 1).

Порівнюючи отримані дані для всіх препаратів, що виготовляються на даній дільниці, за максимальною кількістю балів можна визначити препарати, валідація яких має бути проведена у першу чергу.

Необхідно оцінювати також ймовірність або періодичність виникнення встановлених ризикових ситуацій. Наприклад:

- низька періодичність — 1 бал;
- середня періодичність — 2 бали ;
- висока періодичність — 3 бали.

При цьому при віднесені періодичності до низької, середньої чи високої слід оцінювати кількість одиниць продукції у рамках одного технологічного циклу — при оцінюванні ризику, що може виникнути безпосередньо при виробництві препарату (наприклад, низька періодичність — 1 випадок на 1 млн. одиниць продукції, висока — 1 на 10 тис.), або оцінювати кількість випадків при оцінюванні певних дій (наприклад, частота виготовлення препарату — 1 серія в рік — низька періодичність).

Таким чином, можна врахувати кумулятивну вагу окремих ризиків і категорій та встановити поріг їх критичності. У таблицях 2, 3 наведено приклад кумулятивної ваги ризиків, пов'язаних з особливостями технологічного процесу нового препарату А у флаконах місткістю 20 мл.

Таблиця 1

Критерії значущості (ступеня ризику) для кожної визначеній категорії

Категорії ризику	Дані препарату А (антибіотик цефалоспоринового ряду III покоління)	Критерії значущості (ступеня ризику)			Дані препарату В (антибіотик цефалоспоринового ряду I покоління)	Критерії значущості (ступеня ризику)		
		низький	середній	високий		низький	середній	високий

Медичне застосування препарату

Шлях введення	внутрішньовенно		3	внутрішньом'язово			3
Широта застосування	див. інструкцію з медичного застосування	2		див. інструкцію з медичного застосування		2	
Застосування при невідкладній допомозі	застосовується		3	застосовується		2	
Застосування у педіатрії	застосовується, в т.ч. при лікуванні немовлят		3	не застосовується		—	

Оригінальний чи генеричний лікарський засіб

Класифікація препаратору	генеричний лікарський засіб	1		генеричний лікарський засіб	1	
Повнота інформації про препарат	добре описаний у літературі	1		добре описаний у літературі	1	
Описання властивостей	добре розчинний у воді	1		добре розчинний у воді	1	
Досвід виробництва препарату						
Нове впровадження	+		3	—		
Перенесення на іншу дільницю	—			+		3
Внесення змін	—			+	1	
Наявність реклами	—			—		
*****	*****			*****		
Σ результ.			17			14

Таблиця 2

Ризики технологічного процесу виробництва препарату А (відносні відсотки)

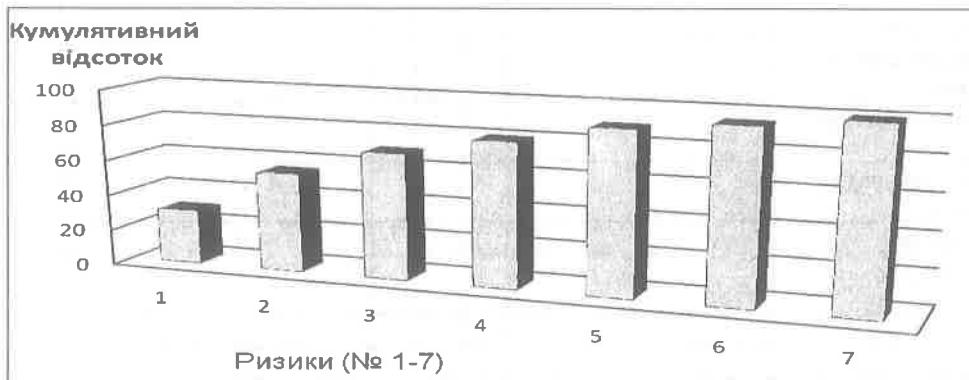
№	Перелік ризиків, що впливають на процес	Кількість об'єктів, що підлягають валідації	Відносний відсоток
1	Використання нового постачальника АФІ (стадія дозування)	1	5
2	Використання нового постачальника флаконів (стадії підготовки флаконів та дозування)	2	10
3	Використання нової оснастки на лінії підготовки флаконів (для флаконів на 20 мл)	5	25
4	Використання нової оснастки на дозуючому автоматі (для флаконів на 20 мл)	6	30
5	Використання нової оснастки на автоматі для нанесення етикеток (для флаконів на 20 мл)	3	15
6	Використання нової оснастки на автоматі для вкладання флаконів у касети (для флаконів на 20 мл)	2	10
7	Навчання/досвід виробничого персоналу (1 зміна)	1	5
	Усього:	20	100

Таблиця 3

Ризики технологічного процесу виробництва препарату А (кумулятивні відсотки)

№	Перелік ризиків, що впливають на процес (у порядку зміщення, %)	Відносний відсоток	Кумулятивний відсоток
1	Використання нової оснастки на дозуючому автоматі (для флаконів на 20 мл)	30	30
2	Використання нової оснастки на лінії підготовки флаконів (для флаконів на 20 мл)	25	55
3	Використання нової оснастки на автоматі для нанесення етикеток (для флаконів на 20 мл)	15	70
4	Використання нового постачальника флаконів (стадії підготовки флаконів та дозування)	10	80
5	Використання нової оснастки на автоматі для вкладання флаконів у касети (для флаконів на 20 мл)	10	90
6	Використання нового постачальника АФІ (стадія дозування)	5	95
7	Навчання/досвід виробничого персоналу (1 зміна)	5	100
		100	

Для візуалізації порівняння значущості різних факторів, що впливають на предмет оцінки, доцільно застосовувати діаграму Паретто. Побудова такої діаграми допомагає встановити пріоритети діяльності. Для наведеного прикладу першочерговій валідації мають підлягати ризики 1–4, оскільки саме вони мають 80 % впливу на процес (рисунок).



Аналіз Паретто

Для ряду препаратів може бути прийняте рішення щодо проведення валідації у неповному обсязі, якщо в результаті виконаного аналізу буде доведено, що репрезентативні препарати доказово мають подібні властивості, процеси, ризики. За даними проведеної роботи має бути складений відповідний звіт, який схвалює відділ забезпечення якості та затверджує уповноважена особа.

Нами розроблено стандартну операційну процедуру визначення критичних аспектів для прийняття рішення про проведення валідації, що охоплює всі необхідні підходи та містить відповідні форми записів.

Розроблені підходи були ефективно застосовані при плануванні робіт з валідації технологічних процесів виробництва стерильних антибіотиків цефалоспоринового ряду на Борщагівському хіміко-фармацевтичному заводі.

Висновки

1. Доведено, що аналіз ризиків дає можливість ґрутовно встановити обсяг проведення робіт з валідації процесу/продукту.

2. Розроблено, обґрутовано та практично апробовано алгоритм визначення критичних аспектів для прийняття рішення про проведення валідації, що дає можливість обґрунтувати скорочення валідаційних робіт, спрямувати зусилля

валідаційних груп на проблемні сфери, зекономити значну частину ресурсів та прискорити валідацію.

3. Розроблено методологічний підхід до ідентифікації ризиків, типових для стерильних лікарських засобів, за встановленими категоріями при валідації технологічного процесу виробництва.

1. Настанова 42-01-2001. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. — К.: МОЗ України, 2001. — 82 с.
2. Настанова 42-3.5-2004. Валідація процесів. Належна виробнича практика. — К.: МОЗ України, 2004. — 12 с.
3. Final Concept Paper. Q 10: Pharmaceutical Quality Systems dated 9 September 2005. — ICH SC, 10 November 2005. — <http://www.ich.org>
4. Good Manufacturing Practice for Pharmaceutical Products: Main Principles. — World Health Organization technical Report Series. — 2003. — № 908. — <http://www.who.int>
5. Good manufacturing practice for sterile pharmaceutical products. In: WHO Expert Committee on Specification for Pharmaceutical Preparations. Thirty-sixth report. WHO Technical Report Series, # 902. Annex 6 — World Health Organization. — 2002. — 220 p.
6. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q 9: Quality Risk Management. Current Step 4 version dated 9 November 2005. — ICH SC, 9 November 2005. — <http://www.ich.org>
7. PIC/S Recommendations PI 007-3 «On the validation of aseptic processes». — 2007. — 17 p. <http://www.picscheme.org/index.php>

Надійшла до редакції 22.07.2009.

O.A.Shestopal, Ю.В.Подпружников

ОПТИМИЗАЦИЯ РАБОТ ПО ВАЛИДАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРОІЗВОДСТВА СТЕРИЛЬНИХ ЛЕКАРСТВЕННИХ СРЕДСТВ

Ключевые слова: валидация, анализ рисков, технологический процесс, критерии значимости

Установлено, что важным элементом в подготовке к проведению валидации является анализ рисков. Разработан методологический подход к идентификации рисков, типичных для стерильных лекарственных средств, по установленным категориям. Предложен алгоритм для принятия решения о проведении валидации, который позволяет обосновать сокращение валидационных работ, направить усилия валидационных групп на проблемные области, сэкономить ресурсы и ускорить валидацию.

O.A.Shestopal, YU.V.Pidpruzhnikov

WORK OPTIMIZATION OF THE MANUFACTURING PROCESS VALIDATION IN PRODUCTION OF STERILE MEDICINAL PRODUCTS

Key words: validation, risk analysis, manufacturing process, test statistic

SUMMARY

It is demonstrated that the risk analysis is an important element in preparation for the validation. The methodological approach to the assessment of risk typical for sterile pharmaceutical products, in accordance with the established categories is developed. The decision-making behaviour to carry out the validation is provided, which enables to justify the optimization of validation work, to aim efforts of validation groups at the areas of concern, save resources and accelerate the validation process.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ РОЗРОБКИ М'ЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЗОВНІШньОГО ЗАСТОСУВАННЯ

Ключові слова: м'які лікарські засоби, фармацевтична розробка, лікарська форма, компоненти, виробничий процес, пакувальні матеріали

М'які лікарські засоби (МЛЗ) займають важливе місце в лікуванні захворювань шкіри та її придатків, оскільки забезпечують безпосередній вплив лікарського засобу (ЛЗ) на збудників захворювання, ліквідацію запальних явищ та усувають або зменшують симптоми хвороби. Завдяки нижчому ризику системної побічної дії порівняно з парентеральними та оральними ЛЗ на сучасному етапі місцеве нанесення МЛЗ на шкіру застосовують не лише для лікування дерматологічних захворювань, але і для системного лікування [20], наприклад, у місцевій антиревматичній терапії для зменшення побічної дії нестероїдних протизапальних засобів з боку шлунково-кишкового тракту. Зовнішнє застосування ЛЗ дає можливість уникати коливання концентрації діючих речовин у плазмі, що є типовим при повторному застосуванні ліків, які швидко виводяться, а також уникати ефекту першого проходження через печінку, який відбувається після абсорбції у шлунково-кишковому тракті. З огляду на це трансдермальне нанесення ліків є актуальним і у разі ЛЗ, які містять гліцерил тринітрат та естрогени, а також ЛЗ для усунення хронічного болю [24].

Вибір складу МЛЗ, а відповідно і технологічного методу проводиться на етапі фармацевтичної розробки ЛЗ, де закладаються основи його якості, ефективності та безпеки [1, 2].

Метою нашої роботи є висвітлення важливих аспектів створення МЛЗ та пропозиція блок-схеми фармацевтичної розробки МЛЗ для зовнішнього застосування.

Основними об'єктами досліджень з фармацевтичної розробки є компоненти ЛЗ, лікарська форма, технологічний процес та пакувальні матеріали [2, 10].

Компоненти лікарського засобу

Вибір діючої речовини. Діюча речовина визначає фармакологічні властивості ЛЗ, тому вибір діючої речовини та її кількісний вміст мають відповідати передбачуваній меті, тобто показанням до застосування. Відповідно до настанови 42-3.1:2004 «Настанови з якості. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка», вибір діючої речовини та її концентрації необхідно обґрунтувати експериментально або шляхом посилань на відповідні наукові джерела літератури [10]. Зокрема, доцільно експериментально визначати концентрацію речовин, які мають антимікробну дію. Необхідно провести дослідження сумісності діючої речовини (діючих речовин) з допоміжними, а у разі комбінованих ЛЗ необхідно дослідити сумісність діючих речовин. Як підтвердження дані мають бути надані результати попередніх досліджень стабільності.

При виборі діючих речовин необхідно перш за все врахувати їх фізико-хімічні властивості та здатність проникати крізь шкіру. Всмоктування речовин шкірою залежить від різних чинників, основними з яких є ліпофільність, ступінь іонізації, розчинність, молекулярна маса та об'єм, хімічна стабільність тощо [3, 20].

Більшість речовин проникають крізь шкіру трансцелюлярним шляхом завдяки пасивній дифузії через епітеліальні клітини. У цьому разі роговий шар епідермісу діє як ліпофільний бар'єр, який сприяє проникненню ліпофільних лікарських речовин (LP) ($\log P > 0$) та запобігає проникненню гідрофільних ($\log P < 0$) [3]. Тому всмоктування залежатиме від ліпофільноті речовини та товщини рогового шару. Наприклад, проникнення метоксалену ($\log P = 1.93$) при усуненні рогового шару зростає тільки в три рази, а абсорбція пенцикловіру ($\log P = 2.03$) при усуненні рогового шару зростає більше ніж у 1300 разів [24]. Проникність залежить від місця нанесення ЛЗ, тобто товщини рогового шару, що також доведено на прикладі глюокортикоїдів – абсорбція гідрокортізуна становить менше ніж 1 % при нанесенні ЛЗ на підошви і 42 % при нанесенні на повіки, абсорбція в ділянці спини, передпліччя і чола є приблизно однаковою [23]. Однак надмірна ліпофільність LP також не сприяє проникненню; речовини, які характеризуються $\log P > 6$, залишатимуться в ліпідній мембрани і не виділятимуться в оточуюче водне середовище [3].

Проникнення LP залежить також від ступеня іонізації, який у свою чергу пов'язаний з pH. При трансцелюлярній пасивній дифузії надається перевага нейонізованій ліпофільній формі [3]. Тому крізь шкіру найкраще проникатимуть речовини, які при pH 4,5–6,5 (нормальне pH здорової шкіри та pH більшості МЛЗ) перебувають у неіонізованій формі.

На процес проникнення лікарських речовин крізь шкіру впливають молекулярна маса та молекулярний об'єм LP. Гідрофільні речовини з низькою молекулярною масою можуть всмоктуватися параселюлярним шляхом, проходячи між епітеліальними клітинами. У разі ліпофільних LP, які всмоктуються шляхом трансцелюлярної пасивної дифузії, великі молекули дифундуватимуть з меншою швидкістю ніж малі, також речовини, молекули яких являють собою компактні конформації, тобто мають малий молекулярний об'єм і матимуть більший коефіцієнт дифузії [3, 20].

Проникнення і фармакокінетична активність LP значною мірою залежить від ступеня їх дисперсності. У суспензійних МЛЗ розмір частинок впливає на швидкість розчинення LP в основі, а також на здатність проникати в роговий шар. З підвищеннем дисперсності частинок збільшується здатність дифундувати з основи, збільшується її концентрація на межі МЛЗ–шкіра, а отже збільшується абсорбція [20, 21]. Наприклад, кортикостероїди, сульфаніламіди, левоміцетин, ароматичні аміни швидше і більше вивільняються з мазей і всмоктуються крізь шкіру, будучи подрібненими до дрібнокристалічного або мікронізованого стану [14, 15]. З урахуванням цього чинника при створенні нових МЛЗ з'являється можливість зменшення дозування LP із збереженням терапевтичного ефекту.

Розмір частинок суспензійної фази має бути оптимальним і науково обґрунтованим. Зменшення величини частинок має свої межі не тільки з точки зору технології, але і з точки зору біодоступності. Не можна вважати виправданим отримання якомога меншого розміру частинок діючої речовини, оскільки це може викликати інактивацію речовини, швидке виведення з організму або небажану дію на організм [20].

На ступінь вивільнення LP з мазей також впливає їх подібність до води або масла (фільність) і природа носія. Речовини, погано розчинні та не розчинні у воді (норсульфазол, стрептоцид, левоміцетин, тетрациклін, анестезин), слабше вивільняються з гідрофобних мазевих основ порівняно з гідрофільними [13–15]. Речовини, не розчинні у воді, вивільняються краще з гідрофільних основ, ніж з гідрофобних і емульсійної типу в/м [14]. Ступінь вивільнення зростає зі збільшенням гідрофільноті основи. Речовини, розчинні у воді (неоміцину сульфат), також вивільняються краще із гідрофільних основ, ніж із гідрофобних і емульсійних типу в/м [15]. Таким чином, вплив LP на абсорбцію необхідно розглядати у вза-

емозв'язку з характером основи, яка є найважливішим допоміжним компонентом, оскільки впливає на ступінь вивільнення і ступінь місцевої біодоступності, а також на утворення певного виду лікарської форми.

Результати біофармацевтичних досліджень, які проводять останніми роками, демонструють, що істотний вплив на фармакокінетичну активність МЛЗ мають такі фізико-хімічні характеристики ЛР, як хімічна модифікація, поліморфізм тощо. Застосування ЛР у вигляді солей, основ і кислот (проста хімічна модифікація) призводить до різних результатів. Так, у вигляді мазей краще всмоктуються і сильніше діють ацетоніди кортикостероїдів, гірше — ацетати й алкоголя. Лідокаїн, введений у мазь у вигляді основи, діє сильніше і триває ніж лідокаїну гідрохлорид [15]. Багато ЛР здатні утворювати поліморфні структури, які відрізняються відносною щільністю, кристалографічними параметрами, показниками рефракції, ГЧ-спектрометричними й іншими характеристиками і в різній мірі зумовлюють біологічну нееквівалентність ліків. Деякі допоміжні речовини сприяють утворенню поліморфних структур ЛР [21].

Вибір допоміжних речовин. До складу МЛЗ, як і інших лікарських форм, крім біологічно активної речовини — основного носія лікувального ефекту, входить велика кількість допоміжних речовин, які в комбінації з діючою створюють ефективний і безпечний ЛЗ. Однак у жодній іншій лікарській формі роль допоміжних речовин, зокрема основи-носія, не є настільки значною, як у МЛЗ. Допоміжні речовини є головними компонентами МЛЗ, що становлять 90 % і вище. Тому при фармацевтичній розробці МЛЗ важливо враховувати можливість місцевоподразновальної та сенсибілізуvalної дії компонентів [22]. Наприклад, ланолін, який може містити залишки інсектицидів, здатний викликати реакції сенсибілізації; соєвий лецитин, який застосовують як емульгатор, може спричинювати алергічні реакції у пацієнтів, які мають алергію до арахісу та сої [17, 21].

Основа впливає на стан, відповідну реакцію і перебіг патологічного процесу тієї ділянки шкіри чи слизової оболонки, на яку нанесено ЛЗ. Основа також вступає у складну взаємодію із введеного до її складу ЛР, підвищуючи або знижуючи її стабільність, сприяючи або перешкоджаючи її вивільненню і всмоктуванню, підсилюючи або послаблюючи її фармакологічну дію, та значною мірою впливає на прояв різноманітних побічних ефектів ЛР. Тобто основа є зв'язуючою ланкою двох взаємореагуючих складових: ЛР — шкіра (організм у цілому).

За ознакою вивільнення ЛР основи розміщаються в такому порядку: гелі гідрофільних високомолекулярних сполук (ВМС) → емульсійні основи типу м/в → емульсійні основи типу в/м → абсорбційні основи → гідрофобні основи [12, 14, 15, 23]. На вивільнення і біологічну доступність ЛР з емульсійних МЛЗ впливає фаза локалізації ЛР. Якщо, наприклад, гідрофобна або гідрофільна речовина локалізована у внутрішній фазі емульсії відповідно типу м/в і в/м, то для вивільнення ЛР існує енергетичний бар'єр у вигляді дисперсійного середовища, в якому ЛР не розчинна [14]. Разом з тим слід зазначити, що абсорбція ЛР не завжди корелює з її дифузією з основи. Наприклад, мазі вітамінів А, С, багатьох сульфаніламідів, резорцину, левоміцетину й інших антибіотиків ефективніші на основах поліетиленоксидних, ніж на жирових [14]. Кислота саліцилова, нікотинати, флюкортолон краще всмоктуються з мазей на емульсійних основах типу м/в, вазеліні та гірше — на основі ПЕО. Малоектичні мазі йоду, цинку оксиду на гідрофільних основах порівняно з мазями на жировій основі, а мазі синалару — на основі ПЕО не справляють терапевтичної дії. Мазі ртуті амідохлорної, ртуті жовтого оксиду однаково активні як на гідрофільних, так і на гідрофобних основах [14, 15]. Тому при фармацевтичній розробці доцільно виготовляти МЛЗ на різних основах, а їх вибір проводити в результаті інших експериментальних досліджень.

При розробці МЛЗ особливу увагу необхідно звернути також на вибір і обґрутування інших ключових допоміжних речовин, які можуть змінювати хімічні,

фізико-хімічні, біологічні властивості як діючої речовини, так і готової лікарської форми [20, 21]. Відповідно до настанови 42-3.1:2004 такими ключовими допоміжними компонентами у МЛЗ є: а) антимікробні консерванти; б) антиоксиданти; в) інші речовини, включаючи поверхнево-активні речовини (ПАР), розчинники, комплексоутворювачі, речовини, що підвищують проникність, модифікатори вивільнення тощо [10].

Використання antimікробних консервантів. Антимікробні консерванти використовують для запобігання чи пригнічення росту мікроорганізмів, які можуть створювати ризик інфікування. Мікроорганізми можуть розмножуватися за нормальніх умов зберігання чи застосування ЛЗ, тому при виборі меж кількісного вмісту консервантів слід приділяти увагу таким чинникам, як умови зберігання і частота відкривання упакування [9, 10].

Від правильності вибору консервантів залежить не лише якість ЛЗ, а й безпечності, яка пов'язана з безпечностю самого консерванта як фізіологічно активної речовини. Консерванти, незалежно від їх походження (природні чи синтетичні), можуть спровалити несприятливу дію на структурно-функціональний стан шкіри, її придатків, слизових оболонок та організму в цілому [4, 9]. Тому фармацевтична розробка МЛЗ має містити інформацію, яка обґруntовує: причину включення консерванта; доведення ефективності; метод контролю консерванта в ЛЗ та інформацію про безпечності. Безпечності консервантів має бути підтверджена бібліографічними даними і/або результатами експериментальних досліджень [10].

Асортимент дозволених до медичного застосування консервантів є досить широким, однак при розробці МЛЗ застосовують переважно парабени (ніпагін, ніпазол), сорбінову кислоту та її солі, бензойну кислоту та її солі, формальдегід тощо [9, 12, 14, 15].

ДФУ не ставить обмежень концентрації консервантів для застосування у МЛЗ, однак при фармацевтичній розробці МЛЗ розробники часто використовують рекомендовані обмеження, які застосовуються у косметичних засобах відповідно до Директиви 76/768 ЄС [19]. Наприклад, максимально допустима концентрація парабенів у складі косметичних засобів становить 0,4 % (для однієї речовини) і 0,8 % (для суміші речовин), бензойної кислоти – 0,5 %, сорбінової – 0,6 %, консерванти не додають до косметичних засобів для дітей віком до трьох років [19]. Зазначені консерванти в рекомендованих концентраціях не мають шкірноподразнювальних, шкірнорезорбтивних і сенсибілізувальних властивостей, тобто характеризуються достатньою безпечностю. Для розширення спектра antimікробної активності і запобігання виникненню побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням високих концентрацій консервантів, надається перевага застосуванню комбінації двох-трьох консервантів у складі одного ЛЗ [20].

Ефективність консервантів залежить не лише від концентрації, а також від хімічної структури, фізичних та хімічних властивостей ЛЗ (особливо pH середовища) та рівня вихідної мікробної контамінації. Наприклад, формальдегід є активним при pH 4–10, парабени – при pH 4–7, бензойна та сорбінова кислоти та їх солі – при pH 4–5,5 [15]. Необхідно також звернути увагу на можливість сорбції консервантів тарозакупорювальними засобами [4].

При фармацевтичній розробці необхідно враховувати фізико-хімічні властивості консервантів. Такі консерванти як бензойна кислота і парагідроксибензоати є леткими. Їх концентрація може зменшуватися протягом технологічного процесу, якщо в останньому передбачено застосування підвищеної температури [21].

Важливе значення при виборі консервантів має такий показник, як розчинність у воді та жирах і значення коефіцієнта міжфазового розподілу. Тому в емульсійних системах через різну розчинність консервантів у водній та масляній фазах, в одній із фаз можливий розвиток мікроорганізмів. Так, парабени обмежено розчинні у воді (практично на рівні мінімальних інгібуючих концентрацій), а коефіцієнт

розділу масло/вода близький до 10 – це зумовлює накопичення консерванта в масляній фазі і вимагає застосування високих концентрацій парабенів у МЛЗ на емульсійній основі [4].

Серед чинників, які послаблюють антимікробну дію консервантів, варто відзначити наявність у досліджуваних ЛЗ ПАР. Останні утворюють комплекси з багатьма консервантами, зменшують антимікробний ефект. Так, консерванти, які належать до групи четвертинних амонієвих солей (бензалконію хлорид) несумісні з багатьма аніонними і неіонними ПАР [21]. Ніпагін та ніпазол несумісні з неіоногенними ПАР та багатьма загущувачами [4].

Консерванти у будь-якій концентрації не слід використовувати як альтернативу дотриманню правил належної виробничої практики [10]. Концентрація консервантів має бути обґрутована у плані ефективності та треба використовувати мінімальну концентрацію консервантів, яка забезпечує необхідний рівень ефективності, тобто забезпечує мікробіологічну чистоту МЛЗ відповідно до вимог, які ставляться до нестерильних ЛЗ 2-ї категорії. Для визначення ефективності консервантів ДФУ регламентує методи проведення дослідження ефективності їх консервуючої дії. Випробування має пройти належну валідацію, а також містити обґрутований вибір підходящих мікроорганізмів щодо відповідної антибактеріальної та антифунгальної активності. Проведення випробування ефективності антимікробних консервантів рекомендується проводити у тих контейнерах, у яких передбачено випуск препарату. Це пов’язано з тим, що конструкція пакування та властивості матеріалу, з якого виготовлене первинне упакування, можуть впливати на ефективність дії антимікробних консервантів [7].

У кожному конкретному випадку вибір консервантів має базуватися на результатах оцінки його можливості забезпечити збереження МЛЗ протягом гарантійного терміну зберігання. Тому необхідно вивчити кількісний вміст консервантів протягом терміну зберігання, контролюючи його за відповідними специфікаціями на готові ЛЗ.

Використання антиоксидантів. Антиоксиданти вводять у рецептуру МЛЗ переважно не з метою захисту шкіри, а для запобігання окисненню діючих та допоміжних речовин у готовому ЛЗ, особливо олій, які містять поліненасичені жирні кислоти. Продукти окиснення піддаються подальшому розкладанню, що може привести до появи неприємного запаху і зміни кольору МЛЗ. На процес окиснення впливають такі чинники: високотемпературний режим приготування МЛЗ, який прискорює окиснення; потрапляння на упакування МЛЗ сонячного світла під час доставки та зберігання продукції; часте відкривання контейнерів при застосуванні та контакт з металами, який може відбуватися у процесі виробництва та зберігання в певних пакувальних матеріалах [11, 16].

Антиоксиданти, як правило, мають позитивний ефект у великих дозах. Необхідність використання великих концентрацій антиоксидантів пояснюється тим, що молекули антиоксидантів руйнуються при реакції з вільними радикалами. Проте відомо, що більшість речовин даної групи характеризуються двофазною дією, тобто антиоксидантний ефект при перевищенні порогової величини змінюється прооксидантним. Для того, щоб антиоксидант ефективно діяв, необхідна наявність відновників, які переводитимуть його в активний стан. Наприклад, вітамін С відновлює вітамін Е, але сам при цьому окиснюється. Тілові сполуки відновлюють вітамін С, а біофлавоноїди відновлюють і вітамін Е, і вітамін С. Такий синергізм спостерігається також між вітаміном Е і каротиноїдами. Залежно від принципу дії антиоксидантів класифікують на власне антиоксиданті, відновлювальні агенти й антиоксиданти-синергісти. До окремої групи непрямих антиоксидантів належать також хелатоутворювальні агенти, найчастіше з даної групи застосовують етилендіамінетраоцтову кислоту, яка завдяки утворенню комплексів з іонами металів запобігає окисненню продукту під дією УФ-променів [11]. Поєднанням різних груп

антиоксидантів можна досягти максимального антиоксидаційного ефекту і високої стабільноти препарату при меншій концентрації антиоксидантів [16]. При виборі антиоксидантів слід враховувати їх розчинність — водорозчинні антиоксиданти (аскорбінова кислота, тіолові сполуки) виявляють свою антиоксидантну дію у водному середовищі, а жиророзчинні — у жировій фазі МЛЗ.

Найчастіше у складі МЛЗ, особливо лікарських косметичних, застосовують синтетичні антиоксиданти — бутилгідрокситолуол, бутилгідроксіанізол, *трем*-бутилгідрохіон та пропілгалат. При виборі антиоксидантів необхідно враховувати, що бутилгідрокситолуол легко розчиняється у більшості жирів та олій, але він ефективніший у поєданні з насиченими жирами, пропілгалат має меншу розчинність, але діє ефективніше ніж бутилгідрокситолуол у поєданні з рослинними оліями. За даними літератури, забезпечення високої антиоксидантної активності досягається використанням меншої концентрації *трем*-бутилгідрохіону, ніж інших антиоксидантів [11]. Несумісність антиоксидантів з діючими або іншими допоміжними компонентами МЛЗ може привести до зміни кольору кінцевого продукту. Антиоксиданти можна вводити до складу лише тих МЛЗ, значення pH яких є нижчим ніж 7,0 і не рекомендується використовувати антиоксиданти в за-сбах з лужним pH [9]. Деякі активні компоненти можуть виступати окисниками, наприклад, введення антиоксиданта в рецептuru, яка містить бензоілпероксид (типовий компонент кремів для лікування вугрового висипу), може позбавити кінцевий продукт ефективності. Також не слід вводити антиоксиданти у рецептuru, які містять α -гідроксикислоти [11].

Важливе значення для забезпечення ефективності антиоксидантів має час введення антиоксиданта до складу МЛЗ. Антиоксиданти вводяться безпосередньо у жири та олії перед їх введенням у рецептuru або додаються в процесі змішування засобу. Важливо, щоб антиоксидант був введений якнайшвидше, оскільки антиок-сиданти сповільнюють окиснення компонентів, але не можуть змінити окиснених продуктів [11].

Антиоксиданти можуть розкладатися під час виробництва чи протягом тер-міну зберігання ЛЗ. Рівень вмісту таких антиоксидантів має бути обґрунтований і підтверджений відповідними експериментальними даними для гарантії того, що протягом усього пропонованого терміну зберігання ЛЗ, включаючи період застосування, підтримується їх достатня активність.

Використання інших допоміжних речовин

Використання ПАР. Вплив ПАР у МЛЗ виявляється в тому, що вони змінюють проникність шкіри, поліпшують змочування поверхні, внаслідок чого впливають на розчинність, а також швидкість розчинення. Краще змочування досягається невеликою кількістю ПАР, якої достатньо для прискорення розчинення багатьох гідрофобних ЛР. При асоціації з ПАР діюча речовина наближається до місця абсорбції, у результаті чого абсорбція збільшується. ПАР змінюють структуру рогово-го шару, який стає більш проникним [14, 18]. Наприклад, мазі, приготовлені на основах, які вміщують ПАР, — 2 % мазь кислоти борної, 5 % мазь сірки і 5 % мазь кислоти саліцилової на консистентній емульсійній основі вода—вазелін, виявляють таку саму терапевтичну активність, як і відповідні мазі на 10 % мазі на вазеліні. Кислота борна із мазей на основах з гліцерину моностеаратом вивільняється в кількості в 50 разів більшій ніж кількість кислоти борної, яка вивільняється з мазі з додаванням холестеролу [14, 15].

Однак вміст ПАР має бути оптимальний, оскільки поряд з поліпшенням роз-чинності ЛР і проникності біологічної мембрани, ПАР можуть у своїх міцелях фіксувати ЛР, яка стає важкодоступною для дифузії до місця абсорбції. Цей про-цес відбувається тоді, коли концентрація ПАР перевищує критичну концентрацію міцелоутворення [21].

Із великої кількості можливих для стабілізації речовин, при фармацевтичній розробці МЛЗ перевагу слід надати тій ПАР, критична концентрація якої найменша, оскільки будь-яка допоміжна речовина в лікарській формі є сторонньою.

Використання регуляторів в'язкості. В'язкість як один з чинників стійкості емульсійних і суспензійних систем забезпечується різними речовинами, з різним механізмом стабілізувальної дії. В емульсійних системах в'язкість масляної фази підвищується при використанні тугоплавких речовин — вищих жирних спиртів та кислот, емульгатора Т-2, моногліцидів та збільшенні маси компонентів масляної фази. В'язкість водної фази підвищується при введенні до складу гідрофільної фази гелеутворювачів: похідних целюлози та альгинової кислоти, моносахаридів тощо [12, 14, 15, 21].

Висока в'язкість дисперсійного середовища є чинником, який сповільнює дифузію ЛР до біологічної мембрани, що проявляється сповільненням абсорбції. Прикладом є лікарські форми з натрію саліцилатом, кислотою саліциловою, нітрофурантойном та інші [14]. Оптимальною вважається та в'язкість, яка не призводить до сповільнення всмоктування діючих речовин. В'язкість дисперсійного середовища забезпечує також основні властивості засобу при використанні: видавлювання із трубки, нанесення на шкіру або слизову оболонку, рівномірність розподілу, адгезивні властивості.

Для вибору оптимальних регуляторів в'язкості проводять реологічні дослідження.

Використання розчинників. Для поліпшення дисперсності ЛР в гетерогенних системах можна застосовувати етанол, гліцерин, димексид, поліетиленгліколь, пропіленгліколь [12, 14]. Ці допоміжні речовини прискорюють та збільшують абсорбцію за рахунок поліпшення розчинності діючих речовин, а також завдяки більшій ліпофільноті порівняно з водою, поліпшують перехід ЛР крізь біологічні мембрани. Так, отримання молекулярного ступеня дисперсності гризофульвіну в полівінілпіролідоні збільшує біодоступність цього антибіотика порівняно з мікронізованою формою ЛР [14]. Поліетиленгліколь стабілізує МЛЗ шляхом запобігання взаємодії молекул діючих речовин між собою та з допоміжними речовинами [21].

Всмоктування лікарської речовини з м'яких ЛЗ, як правило, значно збільшується при наявності в їх складі активаторів всмоктування, які підвищують швидкість дифузії ЛР шляхом зміни структури рогового шару епідермісу за рахунок розчинення ліпідів. Активатори всмоктування (етиловий спирт, цетиловий спирт, цетилпальмітат, цетилмеристат, диметилсульфоксид (ДМСО), диметилформамід, олія терпентинова, ПЕО, ПАР тощо) підсилюють проникнення лікарської речовини крізь шкіру та збільшують активність лікарської речовини в роговому шарі [14]. Однак у кожному конкретному випадку необхідно експериментально дослідити вплив активаторів всмоктування на вивільнення і всмоктування ЛР із МЛЗ. Так, ДМСО підвищує всмоктування сульфаніламідів, анаболічних і андрогенних гормонів, глюкокортикоїдів, мінералкортикоїдів, естрогенів, прогестерону, протипухлинних засобів, антигістамінних, протизапальних, судинорозширювальних і УФ-фільтрів, антикоагулянтів, кислоти саліцилової. Однак є дані про зниження всмоктування натрію саліцилату та преднізолону з мазей при наявності ДМСО. У дерматологічних мазях рекомендується застосовувати до 50 % ДМСО, в мазях для нанесення на слизову оболонку — не більше ніж 10 % [14, 15].

Характерною особливістю МЛЗ є те, що деякі допоміжні речовини можуть одночасно виконувати кілька функцій. Наприклад, деякі пом'якшувальні і зволожувальні компоненти виконують одночасно функції змочувачів і пенетрантів, гелеутворювачі і речовини, які підвищують в'язкість основ, — стабілізаторів дисперсійних систем тощо.

Лікарська форма

Вид лікарської форми. Вид лікарської форми, який визначається компонентним складом допоміжних речовин, є важливим біофармацевтичним та економічним чинником при створенні зовнішніх лікарських форм. Залежно від виду патології та ділянки застосування (на неушкоджену шкіру, рану чи слизову оболонку) основа може виконувати і терапевтичні функції, наприклад, сприяти видаленню ексудату, компенсувати гіпофункцію потових або сальних залоз тощо.

У першій (гнійно-некротичній) фазі ранового процесу рана характеризується високим мікробним обсіменінням та гідратацією як ранових, так і навколоранових тканинних структур з порушенням локальної мікроциркуляції, яка призводить до порушення обмінних процесів, бальового синдрому з вираженою дегідратацією тканинних структур, елімінацією токсинів та медіаторів запального процесу. Виходячи з патогенезу ранового процесу, в його першій фазі слід застосовувати антимікробні, дегідратаційні та некролітичні препарати, які сприяють пригніченню мікрофлори й очищенню рані, створюють умови для подальшої репарації [4]. У першій фазі ранового процесу є раціональним застосування мазей на поліетиленоксидних основах, оскільки вони мають дуже сильну дегідратуючу дію. Осмотична активність цих основ робить неможливим їх використання у другій та третій фазах, оскільки вони пригнічують ріст грануляційних тканин [8].

У другій фазі ранового процесу (фаза грануляції) рана характеризується порівняно низьким (менше ніж 102 мікробних тіл в 1 мл гнійно-некротичних виділень) мікробним обсіменінням, відсутністю перифокального набряку та гіперемії. Основним завданням лікування в другій фазі ранового процесу є захист грануляційної тканини від механічної травми і висихання, профілактика повторного інфікування і стимуляція регенеративно-репаративних процесів [8, 14].

У третій фазі ранового процесу лікарські засоби мають забезпечувати реорганізацію грануляційної тканини та активацію фібробластів з формуванням колагенових волокон та м'яких еластичних сполучнотканинних рубців [8]. У другій та третій фазах доцільно застосовувати креми та гелі.

Реологічні властивості лікарської форми. Реологічні властивості істотно впливають на численні показники технологічного процесу (гомогенізацію, вальцовання, транспортування по трубопроводах, фасування), споживчі властивості (видавлюваність із туб, намазуваність, рівномірний розподіл по поверхні, фіксацію на поверхні тощо), а в кінцевому результаті впливають на ефективність м'якого лікарського засобу .

Фармакопейною вимогою до МЛЗ є постійність реологічних : арактеристик у процесі виробництва, зберігання та використання, оскільки вони відображають як лікувальні, так і споживчі властивості лікарських засобів, хоча фармакопея не ставить конкретних вимог до реологічних параметрів [6]. При вивчені реологічних властивостей необхідно враховувати взаємний вплив як складових компонентів, які зумовлюють консистенцію м'яких ліків, так і зовнішніх чинників (температура, спосіб і тривалість обробки дисперсної системи, умов і часу зберігання, транспортування і т. д.), що впливають на консистенцію готового продукту.

Для кожного МЛЗ при сталості її рецептури, технології (особливо часу гомогенізації), режиму і терміну зберігання можна одержати ідентичну стабільну картину мікроструктури і структурно-механічних (реологічних) властивостей, що може бути використано для правильної організації технологічного процесу, визначення оптимальних умов зберігання і якості (споживчих властивостей) МЛЗ [15].

Останніми роками в літературі зустрічається інформація про створення математичного та програмного забезпечення для вивчення структурно-механічних властивостей м'яких лікарських засобів, що дає можливість максимально прискорити, спростити та підвищити якість оцінки результатів реологічних досліджень.

Встановлення функціональних характеристик лікарського засобу

Необхідно обґрунтувати показники якості, які контролюватимуться при випуску і протягом усього терміну придатності готового лікарського засобу; обґрунтувати вибір методик оцінки якості ЛЗ [1, 2, 10].

Технологічний процес

Застосування у складі МЛЗ лікарських і допоміжних речовин з різними фізико-хімічними властивостями вимагає проведення різних технологічних прийомів (розчинення, диспергування, гомогенізація тощо), які необхідно враховувати при організації їх виробництва для одержання якісного продукту. Спосіб приготування — порядок змішування компонентів, спосіб введення ЛР і ДР в основу впливає і на ефективність МЛЗ. Так, наприклад, кількість кислоти саліцилової, яка вільняється з мазі, збільшується в разі змішування її з готовою консистентною емульсійною основою, а не з окремим компонентом основи. Крім цього, швидкість вивільнення кислоти саліцилової із мазі вища в разі змішування з основою при кімнатній температурі, ніж при температурі плавлення основи. Вивільнення кислоти саліцилової збільшується, якщо її попередньо розчинено в основі, а не введено суспензійним способом [14, 15].

Технологічні прийоми. Шляхом застосування відповідних технологічних прийомів (розчинення, суспендування, емульгування) ЛР може бути доведена до певного ступеня дисперсності: від грубих частинок до іонів та молекул, що у свою чергу впливає на вивільнення ЛР з лікарської форми та на її однорідність.

Однорідність особливо важливою є для МЛЗ, що становлять собою гетерогенні дисперсні системи. При фармацевтичній розробці МЛЗ слід показати, що склад лікарського засобу і пропонована технологія забезпечують однорідність розподілу діючих і (за необхідності) допоміжних речовин. Збереження однорідності МЛЗ необхідно враховувати при обґрунтуванні пропонованих умов зберігання. Однорідність, що досягається за допомогою процесу гомогенізації, має бути досліджена на стадії розробки і підтверджена результатами з валідації, що надаються у відповідній частині реєстраційного досьє. Дослідження, проведені на стадії розробки, можуть служити для попередньої підготовки протоколів валідації, що використовують для повномасштабних процесів гомогенізації при виробництві МЛЗ [2].

Критичні стадії контролю. Критичними є ті аспекти і параметри, для яких вихід за встановлені межі призводить до збоїв у технологічному процесі або до одержання продукції, що не відповідає специфікаціям [2].

Для встановлення критичних стадій контролю в ході фармацевтичної розробки необхідно проводити так звані «провокаційні дослідження» для одержання ситуації «найгірший випадок», щоб розширити знання про функціональні характеристики препарату [2]. Необхідно визначити ризики, пов'язані з конкретною лікарською формою і процесом її виробництва. Мають бути передбачені специфіка відбору проб і види контрольних досліджень. Слід оцінити всі процеси (нагрівання, диспергування та інші) і пов'язані з ними показники якості Технологічні операції, на яких застосовують тиск або температуру, не повинні змінювати реологічні та інші характеристики ЛЗ. При виготовленні МЛЗ, які є гетерогенними дисперсними системами, не дозволяється фасувати МЛЗ у рідкому стані, що може призвести до їх неоднорідного дозування внаслідок розшарування дисперсних систем, за винятком випадків, коли встановлено, що такі умови не впливають на якість готової продукції [14].

Мікробіологічний контроль. Слід встановити необхідність відповідного мікробіологічного контролю ЛЗ, визначити мікробіологічні характеристики лікарської форми. Відповідно до вимог ДФУ ставляться такі вимоги: загальне число життездатних аеробних мікроорганізмів: не більше ніж 100 мікроорганіз-

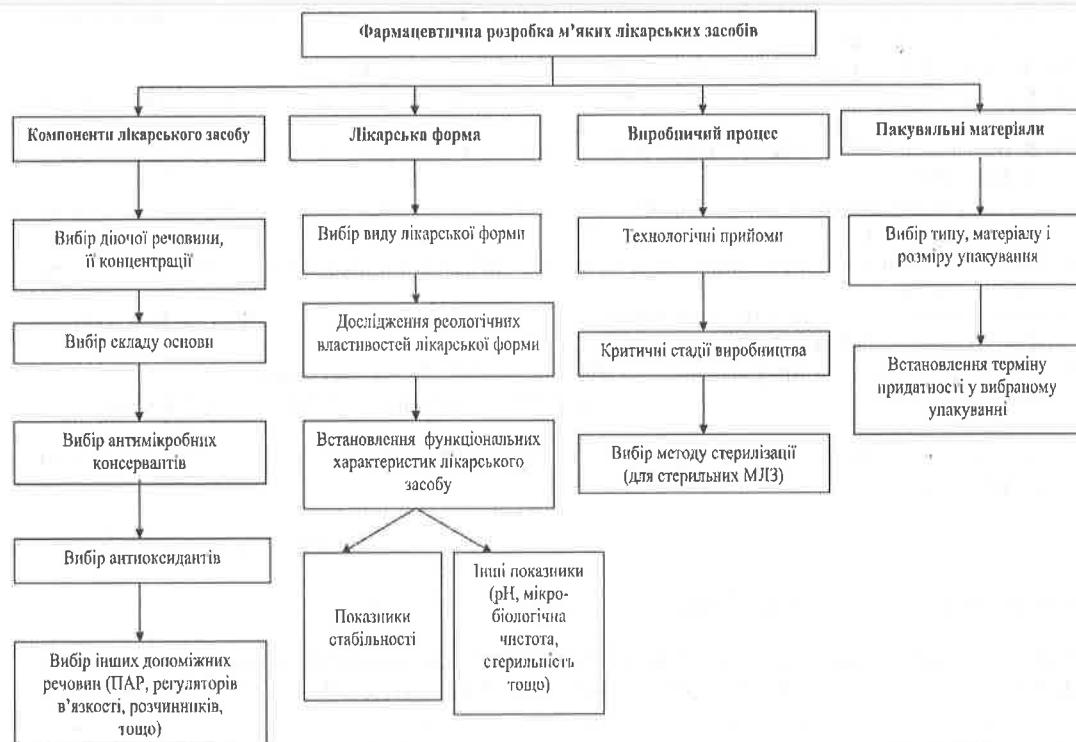
мів (бактерій і грибів сумарно) у грамі, у мілілітрі; відсутність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г, 1 мл; відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г, 1 мл; відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 г, 1 мл [5]. Для МЛЗ, що мають бути стерильними (очні лікарські засоби, стерильні для місцевого застосування), слід вибрати відповідний метод стерилізації, цей вибір має бути обґрунтований.

Пакувальні матеріали

Вид, матеріал і розмір упакувань. Особливе значення при створенні МЛЗ надається вибору первинного упакування, матеріал якого безпосередньо контактує з лікарською формою (туби з полімерних або комбінованих матеріалів, виготовлені на основі алюмінієвої фольги, захищені лаком і/або полімерною плівкою, скляні банки тощо) [14]. Приділяють увагу зовнішньому вигляду, який забезпечує споживчі властивості МЛЗ. Розмір упакування має відповідати передбачуваній меті та частоті застосування ЛЗ.

Встановлення терміну придатності. Для багатодозових ЛЗ, якими є МЛЗ, випробування при фармацевтичній розробці мають давати можливість встановити для ЛЗ термін зберігання під час застосування і термін зберігання після першого відкривання контейнеру, який має зазначатися на етикетці. Цей період має бути настільки коротким, наскільки це можливо, особливо для стерильних ЛЗ (очних м'яких ЛЗ).

Розроблену нами блок-схему фармацевтичної розробки МЛЗ наведено нижче.



Блок-схема фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів

Висновки

Таким чином, без закладання основ якості МЛЗ на етапі фармацевтичної розробки, забезпечення якості ЛЗ при виробництві є неможливим. Для створення ефективного і безпечного МЛЗ необхідно методологічно підходити до фармацевтичної розробки з урахуванням медико-біологічних вимог до ЛЗ, особливостей проникнення речовин крізь шкіру та провести численні експериментальні дослідження, результати яких мають свідчити про те, що кількісний вміст діючих

та інших ключових компонентів у складі ЛЗ та лікарська форма є оптимальними для його передбачуваного застосування, технологічний процес забезпечує високу якість виготовленого засобу, а пакувальні засоби належно зберігають ЛЗ протягом гарантійного терміну застосування.

1. Антипова О.Е. // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 8. – С. 72–80.
2. Безуглая Е.П., Ляпунов Н.А., Бовтенко В.А. // Фармаком. – 2008. – № 4. – С.75–82.
3. Головенко М., Борисюк І. // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 5. – С. 2–9.
4. Гудзь О.В. // Провизор. – 1999. – № 4. – С.45–46.
5. Державна фармакопея України. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
6. Державна фармакопея України. Доповнення II. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008.– 620 с.
7. Дунай О.В., Жемерова К.Г., Ляпунов М.О. та ін. // Фармаком. – 2008. – № 1. – С. 38 – 43.
8. Логачев В.К. // Вісн. фармації. – 2002. – № 2 (30). – С. 50–51.
9. Ляпунов Н.А., Жемерова Е.Г., Безуглая Е.П. та ін. // Фармация. – 2004. – № 1. – С. 13–15.
10. Настанова 42-3.1:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка. – К., 2004. – 15 с.
11. Окислительный стресс и антиоксиданты: организм, кожа, косметика. / Под общей ред. А.Петрухиной. – М.: ООО «Фирма КЛАВЕЛЬ», 2006. – 288 с.
12. Технология и стандартизация лекарств: Сборник научных трудов Государственного научного центра лекарственных средств в двух томах. 1-й том / Под ред. В.П.Георгиевского, Ф.А.Конева. – Х.: ООО Рирег, 1996. – 784 с.
13. Тихонов О.І., Богуцька О.Є. // Вісн. фармації. – 2001. – № 3. – С. 55.
14. Фармацевтические и биологические аспекты мазей / Под ред.проф. И.М.Перцева. – Х.: Изд-во НФаУ: «Золотые страницы», 2003. – 288.
15. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків / За ред. проф. I.M.Перцева. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 728с.
16. Чугасова В.А. // Косметика & Медицина. – 1998. – № 2. – С. 18–23.
17. Beliveau S., Gaudreault P., Goulet L. et al. // J. Cutan. Med. Surg. – 2008. – Vol. 12, Iss.1. – P. 27–30.
18. Borrás-Blasco J., Díez-Sales O., López A. et al. // Int. J. Pharmaceutics. – 2004. – Vol. 269, Iss. 1. – P. 121–129.
19. Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. – 76 p. / www. fda.gov.
20. Dermatological and transdermal formulations / Edited by Kenneth A. Walters. – New York–London. – 2007. – 565 p.
21. Encyclopedia of pharmaceutical technology. Third Edition. / Edited by J.Swarbrick. – New York, London: Informa healthcare, 2007 – 1171 p.
22. Osterberg R., See N. // Int. J. Toxicol. – 2003. – Vol.22, Iss.5. – P. 377–380.
23. Roland I., Piel G., Delattre L. et al. // Int. J. Pharmaceutics. – 2003. – Vol. 263, Iss. 1–2. – P. 85–94.
24. Schafer-Korting M., Mehnert W., Korting H. // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2007. – № 59. – P. 427–443.

Надійшла до редакції 25.12.2009.

С.Б.Билоус, Т.Г.Калынюк, Н.И.Гудзь

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Ключевые слова: мягкие лекарственные средства, фармацевтическая разработка, лекарственная форма, компоненты, производственный процесс, упаковочные материалы

Приведены подходы к фармацевтической разработке мягких лекарственных средств. Фармацевтическая разработка обоснована с учетом особенностей проникновения веществ через кожу и предполагает изучение ключевых физико-химических и фармакокинетических характеристик действующего вещества, выбор вспомогательных веществ и их концентрации, определение и изучение функциональных характеристик лекарственной формы, взаимодействия лекарственного средства с тароукупорочными материалами, определение критических стадий технологического процесса и другое. Разработан алгоритм фармацевтической разработки мягких лекарственных средств.

Key words: semi-solid preparations, pharmaceutical development, dosage form, components, technological process, packaging materials

S U M M A R Y

The approaches to the pharmaceutical development of semi-solid preparations are given in the article. Pharmaceutical development is grounded with taking into account the particularity of penetration of substances through the skin and supposes the study of main physical-chemical and pharmacokinetic properties of active ingredients, selection of auxiliary substances and their concentration, determination and studying of functional characteristics of dosage form, interaction of preparation with packaging materials, determination of the critical stages of technological process, etc.

The algorithm of pharmaceutical development of semi-solid preparations is developed.

ПРАВОВЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ

УДК 615.340.67

*В.В.ШАПОВАЛОВ, д-р фармац. наук, проф., В.О.ШАПОВАЛОВА,
д-р фармац. наук, проф., О.І.СОРОКІН, М.П.РУДИКА*

*Слідче управління ГУМВС України в Харківській області,
Національний фармацевтичний університет*

**ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ПРАВО: СУДОВО-ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ
ПРИЧИННО-НАСЛІДКОВИХ ЗВ'ЯЗКІВ МІЖ ПІВНИЧАЛКОГОЛІЗМОМ,
ПРОТИПРАВНИМИ ДІЯМИ, РОЗЛАДАМИ ЗДОРОВ'Я
ТА МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНОЮ ДОПОМОГОЮ
НА ПІДСТАВІ ДОКАЗОВОЇ ФАРМАЦІЇ**

Ключові слова: психоактивні речовини, пивний алкоголізм, судова фармація, злочинність, доказова фармація

Життя людини і громадянина захищається державою і державними органами (МОЗ України, МВС України, Генеральною прокуратурою України, Міністерством юстиції України та ін.) і відповідно до ст. 3 Конституції України є найвищою соціальною цінністю, а в ст. 27 Основного Закону наголошено, що кожна людина (пациєнт, злочинець та ін. категорії) має невід'ємне право на життя і ніхто не може свавільно позбавити людину життя. Тому запобігання і боротьба зі злочинністю проти життя і здоров'я людини є одним із найважливіших завдань держави. Концепція правової держави завжди пов'язується перш за все з ідеями природних невідчужуваних прав людини, громадянина і хворого, їх визначенням, повагою та охороною з боку держави [2]. Проблеми щодо гарантування безпеки громадян (потерпілих, злочинців, хворих), охорони їх прав і свобод, життя і здоров'я займають сьогодні один із пріоритетних напрямів у загальнодержавній соціально-економічній, медико-фармацевтичній і кримінально-правовій політиці як складової

частини національної безпеки держави. Це вимагає удосконалення правоохоронної і судової діяльності, а також і оптимізацію медико-фармацевтичної допомоги всім прошаркам населення України, яка проголосила пріоритетний напрям щодо інтеграції до Європейського Союзу [7, 8].

Матеріали та методи дослідження

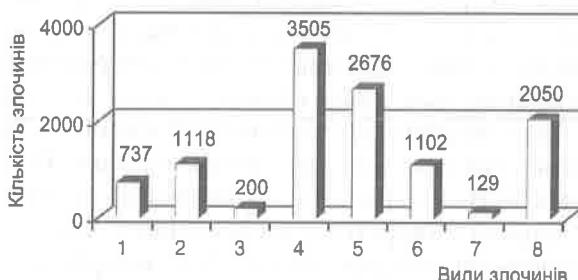
Методами судової фармації, яка є складовою частиною фармацевтичного права, досліджено причинно-наслідкові зв'язки між пивним алкоголізмом, злочинністю, розладами здоров'я та медико-фармацевтичною допомогою на основі доказової фармації. Зокрема, проведено судово-фармацевтичний моніторинг злочинності в стані алкогольного сп'яніння за шість місяців 2009 р. в Україні. Методами доказової фармації, яка також є складовою частиною фармацевтичного права, встановлено, що пивна залежність є адиктивним розладом здоров'я, що відноситься до важкого ступеня алкоголізму, який складно лікувати, і якщо вчасно не зупинити поширення пивної алкогольної реклами, яка пропагує нездоровий спосіб життя, то це обов'язково призведе до деградації особистості, розвалу родин, а згодом — до знищення генофонду нації у цілому, що погрожує системі національної безпеки і обороноспроможності України.

Результати дослідження та їх обговорення

Проблема залежності від психоактивних речовин у вигляді психічних і поведінкових розладів здоров'я (наприклад, внаслідок вживання алкоголю та пива) сьогодні гостро пов'язана з поняттям здорового способу життя населення, пропагандою спорту, поширенням духовності, правової культури та запобіганням причинам і умовам, які зумовлюють зростання злочинності внаслідок вживання алкоголю. Йдеться про негативний вплив на життя і здоров'я, права і свободу людини зловживання алкоголю, а також його сумісного вживання з психоактивними речовинами різних класифікаційно-правових груп (наркотичними та одурманючими засобами, психотропними, отруйними, сильнодіючими, їдкими речовинами, прекурсорами, тютюном тощо), зокрема на життєдіяльність найбільш працездатної частини населення, рівень їх правової культури, духовності, правосвідомості, санітарно-гігієнічних навиків, які сприяють зберіганню і зміцненню здоров'я людини і громадянина, запобіганню розвитку різних розладів здоров'я відповідно до Міжнародної класифікації хвороб 10-го перегляду (алкоголізм, наркоманія, ВІЛ/СНІД, гепатит Б тощо) і підтримуванню оптимальної якості життя [3].

Так, за результатами проведеного авторами судово-фармацевтичного моніторингу встановлено, що за 6 місяців 2009 року у стані алкогольного сп'яніння в регіонах України склоєно (офіційні дані): умисних вбивств (статті 115–118 КК України) — 737 (динаміка зменшення — 6,7 %), умисних тяжких тілесних ушкоджень (ст. 121 КК України) — 1118 (динаміка зменшення — 8,9 %), зґвалтувань (ст. 152 КК України) —

200 (динаміка зменшення — 1 %), крадіжок (ст. 185 КК України) — 3505 (динаміка збільшення — 6,8 %), грабежів (ст. 186 КК України) — 2676 (динаміка збільшення — 9,9 %), розбою (ст. 187 КК України) — 1102 (динаміка збільшення — 6,6 %), дорожньо-транспортних пригод із смертельними наслідками (ст. 286 ч. 2,3 КК України) — 129 (динаміка зменшення — 14 %), хуліганських дій (ст. 296 КК України) — 2050 (динаміка зменшення — 8,6 %), що наведено на рисунку.



Злочини, що склоєні в стані алкогольного сп'яніння за 6 місяців 2009 року в регіонах України:

1 — умисні вбивства, 2 — умисні тяжкі тілесні ушкодження, 3 — зґвалтування, 4 — крадіжки, 5 — грабежі, 6 — розбій, 7 — ДТП зі смертельними наслідками, 8 — хуліганські дії

Серед найпоширеніших алкогольних залежностей слід відмітити пивний алкоголізм. Ця залежність є соціально-економічною, медико-фармацевтичною та кримінально-правовою проблемою, яка стрімко поширюється через недостатню інформованість усіх верств населення, зокрема дітей і молоді, про шкоду для здоров'я та яскраву пивну рекламу, спрямовану зокрема на незахищеною частину суспільства — молоді.

У нашій країні будується велика кількість пив заводів, поширюється реклама пивних напоїв, а разом з цим збільшується кількість споживачів пива. Для вживання пива привід часто не потрібен. Його вживають, щоб розслабитися, весело провести час, навіть утамувати спрагу. Виробники пива, рекламиуючи свій товар, прагнуть збільшити кількість споживачів, акцентуючи увагу на те, що пиво є слабоалкогольним, нібито абсолютно нешкідливим і мало не корисним напоєм. Вони практично гіпнотизують довірливу молодь, показуючи в рекламі молодих, гарних та заможних людей як приклад для наслідування [4].

Пивний алкоголізм — проблема, на яку дедалі частіше вказують експерти-криміналісти, судові наркологи, судові психіатри, судові медики і судові провізори. Дедалі більше представників молодого покоління потрапляють під згубну залежність. Ячмінь, з якого готується пиво, — продукт корисний. У ньому містяться білки, жири, вуглеводи та вітаміни. Але мікрої бродіння у пивному руслі вбивають усі ці корисні властивості, використовуючи їх для власного зростання і розмноження [1,4].

Існують причинно-наслідкові зв'язки між зловживанням пива, розвитком багатьох розладів здоров'я та протиправними діями, про що свідчать приклади із судово-фармацевтичної практики.

Приклад 1. 08.04.2009 р. о 02.00 год до Інституту невідкладної хірургії м.Харкова з діагнозом «проникаюче колоте поранення між 8-м та 9-м ребрами зліва, травматичний шок 1-го ступеня, закритий лівобічний пневмоторакс, алкогольне сп'яніння» була госпіталізована гр.Н., стан здоров'я — стабільно тяжкий, який 07.04.2009 р. близько 22.30 год в с. Мала Данилівка, біля будинку № 21, після спільноговживання спиртних напоїв (пива та горілки) в ході сварки нанесла поранення ножем гр. С. — тяжке тілесне ушкодження, в діях якої вбачаються ознаки злочину, передбаченого ст. 121 КК України.

Приклад 2. 11.04.2009 р. о 23.00 год до оператора служби «02» надійшло повідомлення, що за місцем мешкання гр. Р., 1973 р.н., непрацюючий, заподіяв ножове поранення малознайомому гр. П. Виїздом на місце події з різан им ножовим пораненням шиї та двома колото-різаними пораненнями грудної клітки виявлено труп гр. П., віком 35–40 років. Вжитими заходами розшуку за скоєння злочину затримано гр. Р., який після спільноговживання пива та горілки в ході сварки заподіяв удари ножем в шию та грудну клітку гр. П., від яких він помер. У діях гр. Р. вбачаються ознаки злочину, передбаченого ст. 115 КК України — умисне вбивство.

Судово-фармацевтичні, судово-медичні, судово-наркологічні та судово-психіатричні дослідження зазначають шість причин, чому не варто вживати пиво (або обмежити зловживання), до яких необхідно прислухатися та привернути увагу [3, 4, 5, 6].

Перша причина — шкідливий вплив на шлунок. Щоденне наповнення стравоходу, шлунка та кишечнику алкогольною рідиною з елементами бродіння агресивно подразнює та отруює їх слизову оболонку, розміщені в стінках шлунка залози, які виробляють шлунковий сік згодом атрофуються. Травлення стає неповноцінним, їжа застоюється або неперетравлена надходить до кишечнику. Результат — проблеми з випорожненням і гастрит. До речі, хронічний алкогольний гастрит супроводжується скаргами на загальну кволість, пригнічений настрій, зниження працездатності, металевий присmak і гіркоту в роті, біль у животі.

Друга причина — шкода печінці. Основна функція печінки — очищення організму. Якщо примусити цей орган боротися тільки з пивом, можна порушити її антитоксичну функцію і тоді печінка вже не буде надійним бар'єром для інших сильнодіючих і отруйних речовин. Зловживання хмільним напоєм може сприяти розвитку запальних процесів і навіть спричинити гепатит. До того ж хронічний пивний гепатит здатен перебігати в прихованій формі, без чітко виражених симптомів. Якщо вчасно не зупинитися, на пиві можна заробити навіть цироз печінки. Також через регулярне споживання пива страждає підшлункова залоза: напій пригнічує виділення ферментів, і природний процес розщеплення поживних речовин порушується.

Третя причина — порушення функцій нирок. Головне завдання нирок — підтримання сталості внутрішнього середовища організму. Вони беруть участь у регуляції водно-електролітного балансу та кислотно-лужного складу організму. Пиво порушує ці природні процеси, бо примушує нирки працювати з потрійною силою. Маючи потужний сечогінний ефект, пиво вимиває з організму важливі мікро- та макроелементи, особливо калій, магній і вітамін С. У разі запущеного пивного алкоголізму може статися склероз ниркових судин, крововилив у нирки, інфаркти нирок, утворення некрозів нирок. У подальшому через поступове руйнування спиртом загиблі клітини заміщає сполучна тканина, нирка зменшується в розмірах і зморщується.

Четверта причина — утворення «пивного серця». Пиво всмоктується дуже швидко, тому кровоносні судини вмить переповнюються. Якщо людина вживає пиво часто та багато, виникає варикозне розширення вен і серце збільшується. Лікарі називають таке явище синдромом «бичачого серця» або «пивного серця». Головний орган, змущений щодня перекачувати зайву кількість рідини, стає м'явим, ззовні заростає жиром. Частішають серцеві скорочення, виникає аритмія, підвищується тиск. Фізичні навантаження стають дедалі тяжчими, виникає задишка. У пивних алкоголіків зростає ймовірність розвитку ішемічної хвороби серця. А зниження ско-ротної здатності серцевого м'яза, збільшення об'єму серця призводить до серцевої недостатності. Як наслідок удвічі збільшується смертність від інсульту.

П'ята причина — пригнічення вироблення гормонів. У пиві міститься фітоестроген, який є рослинним аналогом жіночого статевого гормону — прогестерону. Він потрапляє в напій із шишок хмеля, які використовують для надання пиву специфічного гіркуватого смаку. Тому систематичне споживання напою розладжує роботу ендокринної системи. У чоловіків пиво пригнічує вироблення тестостерону. На цьому фоні починають домінувати жіночі гормони, що спричиняє зміну зовнішнього вигляду чоловіка: знижується кількість волосся на тілі та обличчі, збільшуються грудні залози, змінюється тембр голосу, з'являється «пивне черевце» та відкладається жир на стегнах і талії. Отже, що палкий шанувальник пива за біологічними ознаками поступово перетворюється на жінку.

Шоста причина — відмінність пива від горілки. Слабоалкогольне пиво викликає звикання, так званий пивний алкоголізм. Він відрізняється від горілчаного тим, що розвивається в три — чотири рази швидше і потяг випити сильніший. Це частково пов'язано з певними життєвими засадами та звичками, з доступністю та легкістю споживання напою. І боротися з ним набагато складніше. Також слід зазначити, що пристрасть до пива при такому підході виробляється не відразу, але вже через кілька років настає залежність, яка згодом переростає у пивний алкоголізм. За кілька років молоді люди від такого «легкого» здавалося б на перший погляд, дозування фактично деградують, стають залежними, якщо взагалі не хронічними алкоголіками. А згодом потрапляють до лікувальних закладів чи правоохоронних органів. Часто можна помітити, що однаково вживають пиво як хлопці, так і дівчата на вулиці, у під'їздах, парках, спортивних майданчиках та навіть у громадському транспорті [1, 4, 8].

Сьогодні цілком обґрунтовано можна вважати пиво легальною психоактивною речовиною, яка прокладає шлях іншим, більш сильним нелегальним наркотичним засобам. Саме вживання пива є основною причиною скалічених життів мільйонів людей. Алкоголь є найагресивнішою із психоактивних речовин, а пивний алкоголь з у своєю чергу характеризується особливою жорстокістю. Цим і пояснюється завершення пивних уживань хуліганськими діями, згвалтуваннями, вбивствами і грабежами, які тягнуть за собою кримінальну відповідальність [5, 6].

На жаль, сумну статистику, пов'язану із зловживанням молоддю алкоголю, пива та летальними наслідками, фіксують як медики, так і правоохоронці, про що свідчать приклади 3—12 із судово-фармацевтичної практики.

Приклад 3. 05.03.2009 р. о 21.00 год. в м. Харкові одинадцятирічний учень вжив велику кількість спиртного напою у себе вдома наодинці, внаслідок чого, в стані алкогольного сп'яніння тяжкого ступеня, був госпіталізований до центральної районної лікарні, де йому надали першу медичну допомогу.

Приклад 4. 12.04.2009 р. о 11.00 год. надійшло повідомлення гр. Н., 1964 р.н., непрацюючого, що мешкає в с. Донецьке, про те, що за місцем мешкання покінчив життя самогубством через повішання батько гр. С., 1935 р.н., пенсіонер, мешкали разом, при житті зловживав пивом та спиртними напоями, хворів на хронічні захворювання та висловлював наміри покінчити життя самогубством. Тіло померлого без видимих ознак насильницької смерті направлено до моргу.

Приклад 5. 12.04.2009 р. об 11-й год надійшло повідомлення про те, що за місцем мешкання помер гр. А., 1953 р.н., пенсіонер, учасник ліквідації аварії на ЧАЕС, при житті хворів на язву шлунка, зловживав пивними напоями. Тіло померлого без видимих ознак насильницької смерті направлено до моргу.

Приклад 6. 13.04.2009 р. о 15-й год надійшло повідомлення про те, що по вул. Свердлова, смт Коломак, на території колишньої пилорами ПП «Хухрянський», раптово помер сторож гр. Ю., 1958 р.н., при житті зловживав пивними та спиртними напоями. Тіло померлого без видимих ознак насильницької смерті направлено до моргу.

Приклад 7. 15.04.2009 р. о 14-й год надійшло повідомлення про те, що 15.04.2009 в 4-й лікарні померла гр. Д., 1940 р.н., яку 08.04.2009 у стані алкогольного сп'яніння було доставлено з місця мешкання з діагнозом: опіки тіла різних ступенів.

Приклад 8. 15.04.2009 р. о 14-й год надійшло повідомлення про те, що за місцем мешкання покінчив життя самогубством через повішання гр. Р., 1940 р.н., який при житті зловживав спиртними напоями та пивом, мешкав один.

Приклад 9. 16.04.2009 р. о 20-й год надійшло повідомлення про те, що за місцем мешкання раптово помер гр. З., 1952 р.н., який при житті зловживав пивом та спиртними напоями. Тіло померлого без видимих ознак насильницької смерті направлено до моргу.

Приклад 10. 16.04.2009 р. о 20-й год до 2-ї лікарні м. Харкова від будинку № 22 по пр. Гагаріна доставлено невідомого чоловіка віком приблизно 30 років, діагноз: алкогольне отруєння, неконтактний.

Приклад 11. 17.04.2009 р. о 15-й год надійшло повідомлення про те, що на околиці с. Синьок знайдено труп гр. О., 1953 р.н., місцевого мешканця, який при житті зловживав спиртними та пивними напоями.

Приклад 12. 18.04.2009 р. о 17-й год в смт Коломак, поблизу річки Коломак, було виявлено труп гр. М., 1983 р.н., який покінчив життя самогубством через повішання, при житті зловживав пивними та спиртними напоями.

Таким чином, наведені приклади із судово-фармацевтичної практики свідчать про наявність причинно-наслідкових зв'язків між зловживанням алкогольних та

пивних напоїв, розвитком розладів здоров'я та протиправними діями, що потребує відповідної медико-фармацевтичної допомоги таким пацієнтам.

Висновки

1. На засадах судової фармації досліджено причинно-наслідкові зв'язки між пивним алкоголізмом, розладами здоров'я та протиправними діями.
 2. На засадах доказової фармації розроблено комплексний підхід до медико-фармацевтичної допомоги пацієнтам з пивною алкогольною залежністю.
1. *Андреев С. // Преступление и наказание. – 2005. – № 37. – С.6.*
 2. Конституція України. Офіційне видання. – К.: Парламентське видання, 2001. – 92 с.
 3. *Шаповалова В.А., Губський Ю.И., Кут'яко И.И. и др. Лекарственные средства в психо-фармакологии. – К.: Здоровье, Х.: Торсинг; 1997. – 288 с.*
 4. *Лисенко Т., Зінов'єва О. // Маю право. – 2008. – № 21. – С. 10.*
 5. *Лікарські засоби у неврології, психіатрії і наркології / За ред. В.О.Шаповалової, П.В.Волошина, О.В.Стефанова, І.М.Трахтенберга, В.В.Шаповалова. – Х.: Факт, 2003. – 784 с.*
 6. *Фармацевтичне право в наркології / За ред. В.О.Шаповалової, І.К.Сосіна, В.В.Шаповалова. – Х.: Факт, 2004. – 800 с.*
 7. *Шаповалов В.В., Шаповалова В.О., Васіна Ю.В. // Вісник прокуратури. – 2009. – № 2. – С. 107–113.*
 8. *Лисенко Т. // Іменем закону. – 2008. – № 50. – С. 13.*
 9. *Юхно О.О. Запобігання, розкриття і розслідування органами внутрішніх справ вбивств та згвалтувань: Практичний посібник. – Одеса: ОДУВС, 2009. – 356 с.*

Надійшла до редакції 11.08.2009.

В.В.Шаповалов, В.А.Шаповалова, А.И.Сорокин, М.П.Рудыка

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ПРАВО: СУДЕБНО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ
ПРИЧИННО-СЛЕДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПИВНЫМ АЛКОГОЛИЗМОМ,
ПРОТИВОПРАВНЫМИ ДЕЯНИЯМИ, РАССТРОЙСТВАМИ ЗДОРОВЬЯ
И МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПОМОЩЬЮ НА ОСНОВЕ
ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ ФАРМАЦИИ**

Ключевые слова: психоактивные вещества, пивной алкоголизм, судебная фармация, преступность, доказательная фармация

На основе судебной фармации, которая является составляющей фармацевтического права, исследованы причинно-следственные связи между пивным алкоголизмом, расстройством здоровья и преступностью. Установлено, что пивная зависимость относится к тяжелой степени алкоголизма, которую сложно лечить. И если вовремя не остановить распространение пивной алкогольной рекламы, которая пропагандирует нездоровий способ жизни, то эта зависимость обязательно приведет как к деградации личности, так и к развалу семей, а со временем к уничтожению нации в целом.

V.V.Shapovalov, V.A.Shapovalova , A.I.Sorokin, M.P.Rudyka

**PHARMACEUTICAL LAW: FORENSIC AND PHARMACEUTICAL STUDY
OF THE CAUSAL RELATIONSHIPS BETWEEN BEER ALCOHOLISM, ILLEGAL ACTIONS,
DISORDERS OF HEALTH MEDICAL AND PHARMACEUTICAL HELP ON BASIS
OF PROVING PHARMACY**

Key words: psychoactive matter, beer alcoholism, forensic pharmacy, criminality, proving pharmacy

SUMMARY

On base of the forensic pharmacy, which is an element of the pharmaceutical law explored causal relationship between beer alcoholism, frustration of health and criminality. It is installed that pub dependency pertains to heavy degree of the alcoholism, which in a complicated way cure. And if this dependency in time not to stop, spreading the beer alcoholic advertisement, which propagandizes the unhealthy way to life's, will without fail bring both to degradations of the personalities, and to decay family, but since time to deleting the nations as a whole.

УДК 615.15.92(Вікторов)

ПРИВІТАННЯ ПРОФЕСОРУ ОЛЕКСІЮ ПАВЛОВИЧУ ВІКТОРОВУ

ОЛЕКСІЙ ПАВЛОВИЧ ВІКТОРОВ народився 03.05.1945 р., у 1969 р. закінчив педіатричний факультет Київського медичного інституту ім. акад. О.О.Богохульського. З 1972 р. після закінчення очної аспірантури при кафедрі фармакології Київського медичного інституту по 1996 р. Олексій Павлович працював асистентом, доцентом кафедри фармакології, з 1982 р. став засновником курсу клінічної фармакології. У період з 1973 до 1996 р. працював заступником декана та деканом з роботи з іноземними студентами, а в 1992—1993 рр. — заступником начальника Головного управління навчальних закладів, кадрів і науки МОЗ України (зав. відділу науки). У 1992—1995 рр. Олексій Павлович — заступник Голови Фармакологічного комітету МОЗ України, а з 1996 до 1999 рр. — керівник Центру побічної дії ліків Фармакологічного комітету МОЗ України, з 1999 до 2008 рр. — завідувач відділу фармакологічного нагляду Державного науково експертного центру лікарських засобів (ДНЕЦЛЗ) МОЗ України (нині — Державного фармакологічного центру (ДФЦ) МОЗ України), а з 2009 р. — консультант Управління післяреєстраційного моніторингу лікарських засобів ДФЦ МОЗ України.



Життя та діяльність Олексія Павловича тісно пов'язані з розвитком вітчизняної фармакології та клінічної фармакології. Він відомий в Україні та за її межами як вчений, який зробив суттєвий внесок у розвиток експериментальної педіатричної фармакології, розбудову в нашій державі клінічної фармакології як навчальної та наукової галузей медичних знань, а також і практичній площині. Професор О.П.Вікторов був одним з фундаторів створення ДФЦ МОЗ України та засновником системи контролю за безпекою ліків при їх медичному застосуванні в нашій молодій державі. Він належав до складу укладачів 1-ї Національної фармакопеї України, Державного формулару лікарських засобів, є співредактором та співавтором відомого довідникового видання «Компендіум».

О.П.Вікторов — член ряду спеціалізованих рад, президій наукових товариств, редколегій журналів, засновник та головний редактор журналу «Раціональна фармакотерапія». В НІЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д.Стражеска» АМН України за час його діяльності завідувачем відділу клінічної фармакології з лабораторією функціональної діагностики він очолив такий напрям як вивчення небажаних побічних реакцій серцево-судинних та нестероїдних протизапальних лікарських засобів при їх медичному застосуванні в Україні. Під керівництвом О.П.Вікторова виконані три кандидатські й одна докторська дисертації, проводяться дослідження стосовно ще трьох кандидатських та докторської дисертацій. О.П.Вікторов — автор понад 700 наукових праць, у тому числі близько 30 монографій, настанов, довідників, підручників для медичних та фармацевтичних вузів, керівництв для лікарів, фармацевтів, студентів. За його участі отримано 5 патентів та 11 авторських свідоцтв. О.П.Вікторов бере активну участь у науково-громадському житті медичної спільноти України: активний член цілого ряду вчених та спеціалізованих рад, наукових та професійних товариств редкологій низки українських медичних журналів.

Слід зазначити, що становлення відділу клінічної фармакології в Інституті відбувалося і відбувається завдяки особистому внеску О.П.Вікторова як організатора, керівника і вченого. Нині на базі відділу, який очолює О.П.Вікторов, ДФЦ МОЗ України створено клініко-лабораторний комплекс з вивчення біоеквівалентності.

Професор О.П.Вікторов є високо освіченою професійною особою, яка користується повагою та авторитетом серед своїх колег та багатьох людей, які постійно спілкуються з ним.

Співробітники і друзі вітають Олексія Павловича з ювілеєм і бажають йому міцного здоров'я і наснаги у праці.

Друзі, колеги, редакція «Фармацевтичного журналу»

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК 547.461.2:547.466.3

В.А.ГЕОРГІЯНЦ, д-р фармац. наук, проф., Н.І.БАННА, аспірант, В.М.САВЧЕНКО, канд. мед. наук, проф., І.П.БАННИЙ, д-р фармац. наук, проф.

Національний фармацевтичний університет,
Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна

СИНТЕЗ, ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ γ -(R-БЕНЗОЛОКСАМІДО)-БУТАНОВИХ КИСЛОТ ТА γ -(R-БЕНЗОЛСУЛЬФОНІЛОКСАМІДО)-БУТАНОВИХ КИСЛОТ

Ключові слова: γ -(R-бензолоксамідо)-бутанові кислоти, γ -(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанові кислоти, синтез, фармакологічна активність

У сучасній лікарській практиці застосовують велику кількість діуретичних, анальгетичних та протизапальних препаратів, але всі вони виявляють небажані побічні ефекти.

У ряді похідних оксанілової та оксамінової кислот виявлено сполуки з широким спектром фармакологічної активності [5].

Останніми роками проводиться інтенсивний пошук біологічно активних сполук, які поєднують у своїй молекулі арильний, аренсульфамідний, оксамідний радикали та залишки амінокислот [7–15].

Метою даної роботи є синтез γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот і γ -(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанових кислот та вивчення фармакологічної активності нових сполук.

Матеріали та методи дослідження

Синтез зазначених груп сполук здійснено згідно зі схемами:

Схема 1

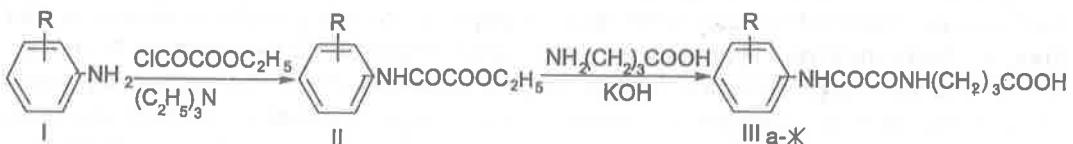
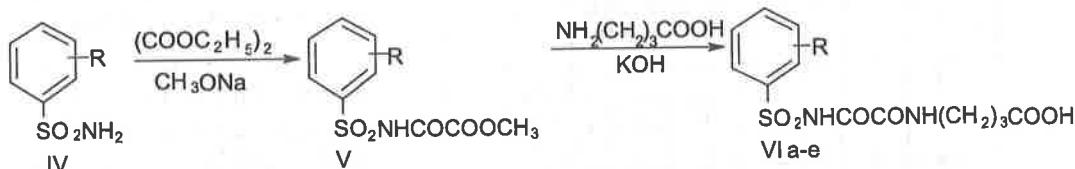


Схема 2



П р и м і т к а: значення R наведено в табл. 1.

Як вихідні продукти для синтезу γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот було використано заміщені аніліни (І). Етилові естери заміщених оксанілових кислот (ІІ) одержано за реакцією ацилювання заміщених анілінів (І) етоксалілхлоридом у середовищі льодяної оцтової кислоти при зниженні температурі за наявності триетиламіну. γ -(R-бензолоксамідо)-бутанові кислоти (ІІІ а–ж) одержано за реакцією амідування естерів ІІ γ -амінобутановою кислотою за наявності KOH при кімнатній температурі з подальшим підкисленням реакційної суміші HCl. Вихід цільових продуктів становить 73–87 % (схема 1).

γ -(R-бензолоксамідо)-бутанові кислоти (ІІІ а–ж) являють собою безбарвні кристалічні речовини, за винятком сполук ІІІа та ІІІб, які мають жовте забарвлення, легко розчиняються у водних лугах, а при нагріванні – у спирті, діоксані, льодяній оцтовій кислоті (табл. 1).

Як вихідні продукти для синтезу γ -(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанових кислот VI а–е було використано аренсульфаміди (ІV) (схема 2). Конденсацією натрієвих солей аренсульфамідів (ІV) з діетилоксалатом у середовищі абсолютної метанолу було синтезовано метилові естери аренсульфонілоксамінових кислот (V). У результаті амідування естерів V γ -амінобутановою кислотою за наявності KOH з подальшим підкисленням реакційної суміші з виходом 63–80 % отримано γ -(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанові кислоти (VI а–е, табл. 1).

Будову амідів ІІІ а–ж та VI а–е підтверджено даними елементного аналізу, УФ-, ІЧ- та ПМР-спектрів, а чистота та індивідуальність – методом ТШХ (табл. 1).

УФ-спектри синтезованих сполук мають одну смугу поглинання, експериментальні дані також підтверджують закономірний батохромний зсув частоти р-смуги поглинання бензолу, що супроводжується гіперхромним ефектом при введенні в бензольне кільце електронодонорних замісників [3].

В ІЧ-спектрах сполук ІІІ а–ж та VI а–е виявлено смуги поглинання на ділянці $1746\text{--}1660\text{ cm}^{-1}$, які відповідають валентним коливанням карбонільної групи (І амідна смуга). Смуги поглинання на ділянці $1593\text{--}1522\text{ cm}^{-1}$ відносяться до деформаційних коливань NH-групи (ІІ амідна смуга), а при $3365\text{--}3323\text{ cm}^{-1}$ та $3298\text{--}3118\text{ cm}^{-1}$ – до валентних коливань NH-групи. Валентні коливання на ділянці $3091\text{--}2639\text{ cm}^{-1}$ відповідають гідроксильній групі. Нітрогрупа має поглинання при $1507\text{--}1506\text{ cm}^{-1}$ та 1445 cm^{-1} , що відповідає асиметричним та симетричним валентним коливанням (сполуки ІІІ а, ІІІ б). В ІЧ-спектрах сполук VI а–е також наявний дуплет смуги асиметричних ($1360\text{--}1339\text{ cm}^{-1}$) та симетричних ($1188\text{--}1153\text{ cm}^{-1}$) коливань SO_2 -групи. В ІЧ-спектрах поглинання сполуки ІІІ ж наявна смуга коливання, характерна для зв'язків C–Br (551 cm^{-1}).

У ПМР спектрах сполук ІІІ а–ж та VI а–е (табл. 2) наявна група сигналів при $d = 8,03\text{--}7,13$ м.ч., яка відповідає протонам ароматичної системи. Квартет сигналів γ -метиленової групи спостерігається при $d = 3,18\text{--}3,06$ м.ч. Квінтетність сигналів при $d = 1,72\text{--}1,58$ м.ч. зумовлено поглинанням протонів середньої метиленової групи. Триплет сигналів α -метиленової групи спостерігається при $d = 2,43\text{--}2,10$ м.ч. У слабкому полі з хімічним зсувом $9,18\text{--}8,10$ м.ч. та $8,15\text{--}7,52$ м.ч. наявні сигнали NH-груп, а в більш слабкому полі виявляються протони карбоксильної групи у вигляді широкого піка.

Експериментальна хімічна частина

УФ-спектри синтезованих сполук зареєстровано на приладі «SPECORD 200» (фірма «Analytikjena») в етанолі. ІЧ-спектри виміряно на спектрофотометрі «TENSOR 27» (фірма «Bruker») у таблетках KBr (концентрація речовин – 0,5 %). Спектри ПМР записано у ДМСО-Д₆ на спектрометрі «Varian Mercury VX-200», внутрішній стандарт – ТМС.

γ-(3-Нітробензоксамідо)-бутанова кислота (III а, табл.1). До розчину 0,56 г (0,01 моль) KOH у 5 мл метанолу додають 1,03 г (0,01 моль) γ-амінобутанової кислоти. Отриманий розчин додають до розчину 2,38 г (0,01 моль) етилового естера 3-нітрооксанілової кислоти у 10 мл діоксану та залишають стояти до зникнення лужного середовища. Осад, що випав, відфільтровують, розчиняють у 5 мл води і підкислюють HCl (1:1) до pH 3. Осад, що випав, відфільтровують, сушать та кристалізують з етанолу. Т. пл. – 180–182 °C. Вихід – 2,40 г.

Аналогічно отримують сполуки III б–ж.

γ-(2-Карбоксибензосульфонілоксамідо)-бутанова кислота (VI а, табл. 1). До розчину 1,12 г (0,02 моль) KOH у 10 мл метанолу додають 2,06 г (0,02 моль) γ-амінобутанової кислоти. Отриманий розчин додають до розчину 2,87 г (0,01 моль) метилового естера 2-карбоксибензосульфонілоксамінової кислоти у 10 мл діоксану та залишають стояти до зникнення лужного середо-

Таблиця 1
Характеристики γ-(R-бензоксамідо)-бутанових кислот та γ-(R-бензосульфонілоксамідо)-бутанових кислот

Сполука	R	Вихід, %	Т. пл. [*] , °C	Знайдено, %			Брутто-формула	Вираховано, %			R _f ^{**}
				C	H	N		C	H	N	
III а	3-NO ₂	81	180-182	48,70	4,48	14,29	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₆	48,82	4,44	14,23	0,46
б	4-NO ₂	77	154-155	48,68	4,41	14,26	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₆	48,82	4,44	14,23	0,52
в	4-CH ₃	87	157-158	59,17	6,18	10,55	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₄	59,08	6,10	10,60	0,41
г	4-OCH ₃	76	217-219	55,90	5,81	9,91	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₅	55,71	5,76	9,99	0,67
д	4-COOH	79	279-281	52,94	4,82	9,68	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₆	53,06	4,79	9,52	0,55
е	4-COOCH ₃	73	199-201	56,16	5,21	9,42	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₆	56,00	5,37	9,38	0,71
ж	4-Br	80	235-237	43,61	4,04	8,62	C ₁₂ H ₁₃ BrN ₂ O ₄	43,79	3,98	8,51	0,62
VI а	2-COOH	80	147-148	43,62	3,82	7,76	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₈ S	43,57	3,94	7,82	0,39
б	3-CH ₃	75	165-166	47,49	4,97	8,59	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₆ S	47,55	4,91	8,53	0,76
в	2-OCH ₃	68	222-224	45,46	4,59	8,25	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₇ S	45,34	4,68	8,13	0,73
г	4-COOCH ₃	69	205-207	45,25	4,37	7,66	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₈ S	45,16	4,33	7,52	0,61
д	3-COOH	63	202-204	43,46	4,02	7,74	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₈ S	43,57	3,94	7,82	0,58
е	4-NH ₂	67	238-240	43,58	4,43	12,82	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₆	43,76	4,59	12,76	0,69

* Кристалізують сполуки III в – з води; VI г, д – з діоксану; інші – з етанолу.

** Константи R_f визначені методом ТІПХ у системі розчинників: для сполуки III а–ж – хлороформ–етанол–апетон (1:9:10); для сполуки VI а–е – бутанол–оцтога кислота–вода (32:14:5) на пластинах «Silufol UV-254», проявлення парами йоду.

Таблиця 2

IЧ-спектри, см⁻¹ та ПМР-спектри, δ, м. ч. γ-(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот і γ-(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанових кислот

Сполучка	ν _{с-о} (амід І)	Н ароматич.	CONHCH ₂	SO ₂ NH	γ-CH ₂	-CH ₂₋	α-CH ₂	Інші протони
ІІІа	1683	7,70(1Н,с) 7,87(3Н,т)	8,90(1Н,т)		3,07(2Н,к)	1,67(2Н,кв)	2,18(2Н,т)	
б	1682	7,73(2Н,с) 8,03(2Н,д)	8,87(1Н,т)		3,10(2Н,к)	1,62(2Н,кв)	2,16(2Н,т)	
в	1680	7,43(2Н,д) 7,80(2Н,д)	8,95(1Н,т)		3,08(2Н,к)	1,60(2Н,кв)	2,18(2Н,т)	3,08 (3Н, д, CH ₃) 11,97(1Н, ушир. COOH)
г	1665	7,40(2Н,д) 7,80(2Н,д)	8,92(1Н,т)		3,10(2Н,к)	1,60(2Н,кв)	2,10(2Н,т)	2,42 (3Н, д, OCH ₃) 12,00(1Н, ушир. COOH)
д	1698	7,53(2Н,с) 7,91(2Н,т)	8,10(1Н,д)		3,16(2Н,к)	1,70(2Н,кв)	2,43(2Н,т)	13,12 (1Н, ушир. COOH)
е	1665	7,42(2Н,д) 7,78(2Н,д)	8,90(1Н,т)		3,06(2Н,к)	1,58(2Н,кв)	2,13(2Н,т)	2,42 (3Н, д, OCH ₃)
ж	1746	7,37(2Н,д) 7,82(2Н,д)	9,06(1Н,т)		3,18(2Н,к)	1,68(2Н,кв)	2,18(2Н,т)	12,07 (1Н, ушир. COOH)
VІІа	1742	7,27(2Н,т) 8,02(2Н,т)	9,10(1Н,т)	7,62(1Н,т)	3,10(2Н,к)	1,73(2Н,кв)	2,23(2Н,т)	12,56 (1Н, ушир. COOH)
б	1693	6,88(1Н,д) 7,17(3Н,т)	8,99(1Н,т)	7,52(3Н,т)	3,18(2Н,к)	1,72(2Н,кв)	2,22(2Н,т)	2,46 (3Н, с, CH ₃)
в	1742	6,97(2Н,к) 7,13(2Н,к)	9,18(1Н,т)	8,15(1Н,д)	3,18(2Н,к)	1,72(2Н,кв)	2,22(2Н,т)	2,45 (3Н, с, OCH ₃) 12,04 (1Н, ушир. COOH)
г	1726	7,42(2Н,д) 7,83(2Н,д)	8,94(1Н,т)	7,82(1Н,д)	3,08(2Н,к)	1,60(2Н,кв)	2,18(2Н,т)	2,36 (3Н, д, CH ₃) 11,97 (1Н, ушир. COOH)
д	1693	7,18(2Н,т) 7,33(3Н,т)	9,00(1Н,т)	7,78(1Н,д)	3,18(2Н,к)	1,70(2Н,кв)	2,25(2Н,т)	12,00 (1Н, ушир. COOH)
е	1660	7,25(4Н,с)	9,02(1Н,т)	7,78(1Н,д)	3,18(2Н,к)	1,70(2Н,кв)	2,20(2Н,т)	7,92 (2Н, д, NH ₂) 12,08 (1Н, ушир. COOH)

вища. Осад, що випав, відфільтровують, розчиняють у 10 мл води і підкислюють HCl (1:1) до pH 3. Осад, що випав, відфільтровують, сушать та кристалізують з етанолу. Т. пл. — 147—148 °C. Вихід — 2,86 г.

Аналогічно отримують сполуки VI б—е.

Експериментальна біологічна частина

Вивчення гострої токсичності нових сполук проведено на інтактних безпородних білих миших різної статі масою тіла 18—24 г. Середні смертельні дози (ЛД₅₀) визначали за методом Кьюберса [4]. Результати отриманих даних наведено в табл. 3.

Діуретичну активність вивчено на білих щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 210—240 г за методом Е.Б.Берхіна [2]. Аналіз отриманих експериментальних даних проводили порівняно з еталонними діуретиками гіпотазидом та фуросемідом. Результати досліджень наведено в табл. 3.

Протизапальну активність нових сполук вивчали на моделі гістамінового набряку [6]. Досліди проводили на білих безпородних щурах обох статей масою тіла 210—260 г. Отримані результати наведено в табл. 3.

Аналгетичну активність отриманих сполук досліджували на моделі «оцтових корчів» у дослідах на білих щурах масою тіла 180—220 г [6].

Результати отриманих експериментальних даних наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Діуретична, протизапальна, анальгетична активність та гостра токсичність γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот і γ -(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанових кислот

Сполука	Активність				LD_{50} (мг/кг)	
	діуретична, % у дозі 0,01–0,02 LD_{50}		протизапальна, % у дозі 10 мг/кг	анальгетична, % у дозі 50 мг/кг		
	через 2 години	через 4 години				
III а	139,8	227,0	22,5	21,4	1400	
б	215,2	232,2	20,4	25,6	1730	
в	146,6	162,2	12,7	10,8	1465	
г	126,3	133,9	10,6	14,2	1570	
д	239,8	227,4	36,6	39,2	1610	
е	116,1	132,6	20,4	12,5	1450	
ж	170,3	184,4	14,8	20,5	1515	
VI а	265,6	320,1	18,6	14,3	2410	
б	180,0	210,4	—	8,8	2930	
в	168,0	175,9	12,2	17,6	2635	
г	135,2	152,6	10,7	—	3025	
д	274,4	296,4	18,6	12,5	2575	
е	186,4	194,4	21,4	16,6	2745	
Гіпотіазид	159,2	168,3				
Фуросемід	318,8	405,5				
Адіурекрин	54,7	56,1				
Аналгін			49,3	46,2		
Диклофенак			55,7	51,2		

Весь експериментальний матеріал було оброблено методом варіаційної статистики з урахуванням критерію Стьюдента [1].

Результати дослідження та їх обговорення

Результати досліджень свідчать, що гостра токсичність вивчених сполук перевбуває в діапазоні 1400–3025 мг/кг. Найменш токсичною виявилась γ -(4-метоксикарбонілбензолсульфонілоксамідо)-бутанова кислота (сполука VI г, табл. 3), LD_{50} якої становила 3025 мг/кг. Заміна у бензольному ядрі сполуки VI г 4-метоксикарбонільного радикала на 3-метильний (сполука VI б), 4-аміно (сполука VI е), 2-метокси (сполука VI в), 3-карбокси (сполука VI д) та 2-карбокси (сполука VI а) підвищує токсичні властивості сполук (LD_{50} – 2930, 2745, 2635, 2575, 2410 мг/кг відповідно). Подальша заміна радикалів у бензольному ядрі обох груп сполук призводить до значного підвищення токсичності речовин.

Аналіз результатів вивчення діуретичної активності свідчить, що більшість вивчених сполук в умовах водного навантаження викликає збільшення видільної функції нирок у середньому на 32,6–220,1 % (табл. 3). Виражену діуретичну активність, яка перевищує дію гіпотіазиду в 1,8–1,9 разу, виявляють сполуки, що містять у бензольному кільці молекули 3-карбокси та 2-карбокси радикали (сполуки VI д та VI а). Ці сполуки у дозах 25,7 та 24,1 мг/кг за дві години збільшували діурез у середньому на 174,4 % та 165,6 %, а за чотири години – на 196,4 % та 220,1 % відповідно. Заміна вказаних радикалів у бензольному кільці молекул на інші радикали: 4-нітро (сполука III б), 4-карбокси (сполука III д), 3-нітро (сполука III а) та інші поступово знижує діуретичний ефект.

Експериментальні дані (див. табл. 3) свідчать про те, що більшість досліджених сполук зменшувала розвиток експериментального набряку в середньому на 10,6–36,6 %. Найбільший антиексудативний ефект виявлено у сполуки III д, яка містить у четвертому положенні бензольного кільця карбоксильну групу. Ця сполука пригнічувала розвиток набряку на 36,6 %, що не досягає дії анальгіну та диклофенаку. Заміна вказаного радикала у сполуці III д на 3-нітрогрупу (сполука

III а) веде до зменшення протизапальної активності (22,5 %). Введення в бензольне кільце молекули 4-аміногрупи (сполука VI е), 4-нітрогрупи (сполука III б), 4-метоксикарбонільної групи (сполука III е) веде до зниження антиексудативного ефекту (21,4; 20,4; 20,4 %). Сполуки з іншими радикалами виявляють значно нижчий антиексудативний ефект, а сполука VI б виявилася неактивною.

З даних, наведених у табл. 3, видно, що більшість сполук виявляють помірну анальгетичну активність. Найбільшу анальгетичну активність виявила сполука III д, яка містить у четвертому положенні бензольного кільця карбоксильну групу. Ця сполука зменшувала бальову чутливість на хімічний подразник у середньому на 39,2 %. Заміна вказаного радикала на 4-нітро (сполука III б), 3-нітро (сполука III а) та 4-бром (сполука III ж) призводить до зниження анальгетичної активності (25,6; 21,4; 20,5 % відповідно). Введення інших радикалів у бензольне кільце молекули зумовлює подальше зниження анальгетичного ефекту. Сполука, яка містить у четвертому положенні бензольного кільця 4-метоксикарбонільний радикал (VI г), виявилася неактивною.

Висновки

1. Здійснено синтез γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот та γ -(R-бензолсульфонілоксамідо)-бутанових кислот, структуру яких підтверджено даними елементного аналізу, УФ-, ІЧ- та ПМР-спектрів.

2. У результаті фармакологічних досліджень виявлено речовини з вираженою фармакологічною активністю та низькою токсичністю. Сполуки VI д та VI а перевищували дію гіпотіазиду в 1,8–1,9 разу.

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – 2-е изд. – Л.: Медицина, 1963. – 148 с.
2. Берхин Е.Б. // Хім.-фармац. журн. – 1977. – Т. 11, № 5. – С. 3–11.
3. Бранд Дж., Энглінтон Г. Применение спектроскопии в органической химии. – М.: Мир, 1976. – 276 с.
4. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1977. – 131 с.
5. Георгіянц В. А., Банна Н. І., Савченко В. М. // Вісник фармації. – 2007. – № 3(51). – С. 7–11.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. О.В.Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
7. Awouters F., Megens A.A.H.P., Niemegeers C.J.E. et al. // Jap. Pharmacol. Therap. – 1991. – Vol. 19. – P. 73–89.
8. Chena M., Betz W.J. // Biophys. J. – 1991. – Vol. 59, № 6. – P. 1251–1260.
9. Collins K.S., Franzblau S.G. // Antimicrob. Agents and Chemotherapy. – 1997. – Vol. 41. – P. 1004–1009.
10. Gentry C., Melarange R., Durie M. et al. // Clin. Drug. Invest. – 1996. – Vol. 11, № 1. – P. 49–59.
11. Geerts W.H., Sayr M. // N. Engl. J. Med. – 1996. – № 336. – P. 701–707.
12. Haykawa J., Ando S.H. // J. Jap. Dent. Mater. – 1997. – Vol. 7, № 7. – P. 79–82.
13. Janyian M. // J. of Pharmac. Care in Pain and Symptom Control. – 1999. – Vol. 7, № 4. – P. 37–46.
14. Morgenstern O. // Ibid. – 2000. – Vol. 50, № 12. – P. 871–891.
15. Negwer M. Organic-chemical drugs and their synonyms (an international survey). – Berlin: Academie Verlag, 1994. – Vol. I. – 2855 p.

Надійшла до редакції 23.03.2009.

В.А.Георгіянц, Н.И.Банная, В.Н.Савченко, И.П.Банный

СИНТЕЗ, ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
 γ -(R-БЕНЗОЛОКСАМИДО)-БУТАНОВЫХ КИСЛОТ И γ -(R-БЕНЗОЛСУЛЬФО-
НИЛОКСАМИДО)-БУТАНОВЫХ КИСЛОТ

Ключевые слова: γ -(R-бензолоксамида)-бутиловые кислоты, γ -(R-бензолсульфонилоксамида)-бутиловые кислоты, синтез, фармакологическая активность

Осуществлен синтез γ -(R-бензолоксамида)-бутиловых кислот и γ -(R-бензосульфонилоксамида)-бутиловых кислот. Фармакологические исследования выявили, что большинство соединений проявляют диуретическую, противовоспалительную и анальгетическую активность при низкой токсичности.

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE Γ -(R-PHENYLOXAMIDO)-BUTANOIC ACIDS AND Γ -(R-PHENYLSULFONILOXAMIDO)-BUTANOIC ACIDS

Key words: γ -(R-phenyloxamido)-butanoic acids, γ -(R-phenylsulfoniloxyamido)-butanoic acids, the synthesis, the pharmacologic activity

S U M M A R Y

γ -(R-phenyloxamido)-butanoic acids and γ -(R-phenylsulfoniloxyamido)-butanoic acids were synthesized. The pharmacologic reserches showed that majority of com-pounds synthesized displayes diuretic, anti-inflammatory and analgesic activity when the toxicity is low.

УДК 54.057:542.951.1:547.583.1

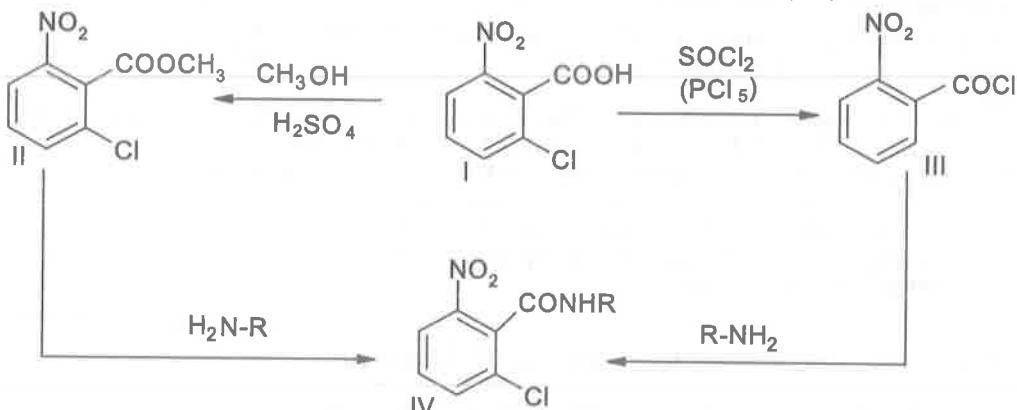
С.Г.ІСАЄВ, канд. фармац. наук., доц., О.А.БЛИЗНЮК, здобувач,
О.О.ПАВЛІЙ, канд. фармац. наук, Л.М.АЛЕКСЄЕВА, канд. фармац. наук, доц.,
Н.Ю.ШЕВЕЛЬОВА, канд. біол. наук, доц.

Національний фармацевтичний університет

СИНТЕЗ, БУДОВА ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ АЛКІЛ-
ТА АРИЛАМІДІВ 6-НІТРО-2-ХЛОРБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

Ключові слова: синтез, 6-нітро-2-хлорбензойна кислота, біологічна активність

Перспективною групою для пошуку БАР є похідні ароматичних кислот, а саме орто-хлорбензойної та продуктів їх перетворень [1, 4–7, 9–11]. Серед них виявлено високоефективні та малотоксичні субстанції з різноманітною фармакологічною дією [3–16]. У продовження досліджень у цьому напрямі нами здійснено синтез нових алкіл- та ариламідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IV) за схемою



Алкіл- та ариламіди 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IV) одержані трьома способами: взаємодією метилового ефіру (спосіб А) або хлорангідриду (спосіб Б) 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти з аліфатичними та ароматичними амінами. Доцільніше проводити дану реакцію шляхом дії на кислоту (I) тіонілхлоридом або пентахлоридом фосфору без розчинника з подальшим амідуванням амінами без виділення хлорангідриду (III) в одну технологічну стадію з виходом цільового продукту (IV) 88–92 % (спосіб В).

Алкіл- та ариламіди 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IVa-ε) — жовті кристалічні речовини, розчинні в етанолі, ДМФА, діоксані та нерозчинні у воді. Будову синтезованих речовин підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектрів, а індивідуальність — методом ТШХ (таблиці 1, 2).

Таблиця 1

Алкіл- та ариламіди 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти

Сполучка	R	Вихід, %			Tпл.*, С*	Знайдено, % N C	Емпірична формула	Вираховано, %		R _f **	
		Сп.А	Сп.Б	Сп.В				N	C	1	2
IVa	CH ₃	72	80	90	150–152	13,22 44,82	C ₈ H ₇ ClN ₂ O ₃	13,05	44,77	0,54	0,33
IVб	-(CH ₂) ₅ CH ₃	70	74	90	163–164	9,95 54,83	C ₁₃ H ₁₇ ClN ₂ O ₃	9,84	54,84	0,43	0,30
IVв	C ₆ H ₄ -2'-CH ₃	54	72	92	186–188	9,72 57,91	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₃	9,64	57,84	0,41	0,29
IVг	C ₆ H ₄ -4'-CH ₃	50	—	90	170–173	9,77 57,75	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₃	9,64	57,84	0,40	0,27
IVд	-C ₆ H ₄ -3'-OCH ₃	62	—	88	202–204	9,17 54,89	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₄	9,13	54,83	0,36	0,21
IVе	C ₆ H ₄ -3'-OCH ₃	58	75	91	208–211	9,23 54,77	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₄	9,13	54,83	0,35	0,20
IVε	-C ₆ H ₃ -2'-COOH-4'-Cl	—	77	88	227–228	8,02 47,45	C ₁₄ H ₈ Cl ₂ N ₂ O ₄	7,89	47,35	0,29	—

* Сполуки IIIa-ε кристалізують з водного етанолу.

** Значення R_f наведені в системах: 1 — ацетон—гексан (1:1); 2 — ацетон—гексан—хлороформ (2:2:1).

Таблиця 2

ІЧ- та УФ-спектральні характеристики алкіл- та ариламідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти

Сполучка	ІЧ-спектри (частота поглинання), см ⁻¹					УФ-спектри в етанолі		
	v _{NH}	v _{C=O}	δ _{NH}	v ^{as} NO ₂ v ^s NO ₂	v _{C-Cl}	λ _{max} , нм	lg E	
IVa	3285	1662	1578	1534 1346	760	—	—	—
IVб	3284	1648	1572	1530 1344	740	—	—	—
IVв	3252	1672	1578	1535 1348	735	270	4,32	—
IVг	3268	1680	1575	1526 1326	732	268	4,30	—
IVд	3244	1656	1568	1528 1350	758	262	4,26	—
IVе	3266	1682	1580	1540 1334	760	—	—	—
IVε	3258	1655	1574	1536 1330	758	—	—	—

В ІЧ-спектрах амідів спостерігаються смуги поглинання валентних коливань NH-групи при 3285–3244 см⁻¹, групи C=O при 1682–1648 см⁻¹ (v_{C=O}). Нітрогрупа виявляється у вигляді двох смуг поглинання у ділянках 1540–1526 см⁻¹ (v^{as}NO₂) і 1350–1330 см⁻¹ (v^sNO₂). Деформаційні коливання NH-групи (δ_{NH}) представлені синглетним піком у ділянці 1580–1568 см⁻¹. Смуга поглинання середньої інтенсивності при 760–732 см⁻¹ зумовлена наявністю валентних коливань зв'язку C—Cl (v_{C-Cl}). В УФ-спектрах анілідів 6-ніtro-2-хлорбензойної кислоти (табл. 2) в етанолі спостерігається одна смуга при 262–270 нм і головним хромофором є ароматична система. Слід відмітити, що природа замісника в анілідному фрагменті істотним чином не позначається на розташуванні максимуму.

Синтезовані сполуки (IVa–ε) було досліджено на виявлення ними жовчогінної, мембронопротекторної, антиоксидантної, діуретичної, бактеріостатичної та фунгістатичної активності [2].

Високу та помірну жовчогінну активність у дозі 25 мг/кг виявляють сполуки IVг, IVе, IVе (табл. 3). Найбільшу холеретичну дію виявляють 4'-метилфеніламід (IVг) та 4'-метоксифеніламід (IVе) 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти. Для сполук IVг та IVе також характерна досить висока мембронопротекторна та антиоксидантна активність. Середній рівень жовчогінної, мембронопротекторної та антиоксидантної активності характерний і для 2'-карбокси-4'-хлораніліду 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IVе). Слід відзначити, що алкіламіди 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IVа, IVб) не виявляють жовчогінного ефекту (табл. 3).

Бактеріостатична активність амідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти відносно грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів передуває в межах 62,5–500 мкг/мл (табл. 4). Аналіз даних мікробіологічних досліджень свідчить, що ці сполуки більш вибірково інгібують ріст кишкової палички та золотистого стафілокока. Протигрибкова активність синтезованих амідів щодо *Candida albicans* і *Candida triadis* передуває в межах 31,2–500 мкг/мл (табл. 3). Найбільшу фунгістатичну дію виявляють сполуки IVе та IVе.

Вивчення сечогінної дії у дозі 50 мг/кг виявило тільки одну субстанцію з високою діуретичною активністю, яка в анілідному фрагменті має карбоксильну групу —

Таблиця 3

Біологічна активність алкіл- та ариламідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти

Сполука	Жовчогінна, % у дозі 25 мг/кг	Мембронопротекторна, % у дозі 15мг/кг	Антиоксидантна, % у дозі 15мг/кг	Фунгістатична, МПК, мкг/мл		DL ₅₀ , мг/кг (внутрішньошлунково)
				<i>Candida albicans</i>	<i>Candida triadis</i>	
IVа	5,9	—	—	250	500	—
IVб	10,3	—	—	250	500	—
IVв	5,8	11,6	—	125	250	—
IVг	56,2	25,1	40,4	125	250	>3000
IVд	20,7	9,8	45,1	125	250	—
IVе	61,4	31,8	62,3	31,2	62,5	>4000
IVе	36,4	36,5	44,4	31,2	62,5	>5000
Оксafenамід у дозі 150 мг/кг	46,9	—	—	—	—	4000
Вітамін Е у дозі 150 мг/кг	—	27,0	51,6	—	—	—
Сілібор у дозі 25мг/кг	—	41,8	24,0	—	—	—
Фурацилін	—	—	—	64,0	—	82,5*

* DL₅₀ — при внутрішньоочеревному введенні.

Таблиця 4

Бактеріостатична та діуретична активність алкіл- та ариламідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти

Сполука	Діуретична, % у дозі 50 мг/кг	Бактеріостатична, МПК (мкг/мл)								DL ₅₀ , мг/кг (внутрішньошлунково)
		1	2	3	4	5	6	7	8	
IVа	108	250	500	250	500	125	250	500	125	—
IVб	118	250	500	250	500	250	250	500	250	—
IVв	75	125	500	125	125	250	500	500	125	>4000
IVг	132	125	500	125	500	250	250	250	250	—
IVд	76	125	500	125	500	250	250	500	250	—
IVе	144	62,5	250	62,5	250	250	250	250	250	>4000
IVе	284	62,5	125	62,5	250	125	250	125	250	>5000
Етакридину лактат	—	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125	21 (в/черев.)
Гіпотіазид у дозі 50 мг/кг	212	—	—	—	—	—	—	—	—	320

Умові позначення:

1. *Staphylococcus aureus*;
2. *Bacillus subtilis*;
3. *Escherichia coli*;
4. *Pseudomonas aeruginosa*;
5. *Salmonella choleraesuis*;
6. *Salmonella dublin*;
7. *Salmonella typhimurium*;
8. *Salmonella typhisuis*.

2'-карбокси-4'-хлоранілід 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IVe). Сполуки IVb, IVd виявляють антидіуретичний ефект на рівні неодикумарину (табл. 3).

Вибірково вивчення гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні на білих миших свідчить, що аміди 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти за класифікацією К.К.Сидорова відносяться до класу малотоксичних речовин ($DL_{50} > 3000-5000$ мг/кг).

Експериментальна частина

ІЧ-спектри знімали на спектрофотометрі «Specord-M-80» у таблетках калію броміду, а УФ-спектри вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 в етанолі. Розчини для аналізу готували в концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-5}$. Хроматографування в тонкому шарі сорбенту проводили на пластинах «Silufol UV-254», а елементний аналіз синтезованих сполук — на автоматичному аналізаторі М-158 фірми «Hewlett Packard».

Метиловий ефір 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (II)

Суміш 2,01 г (0,01 моль) 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти, 0,7 мл концентрованої H_2SO_4 в 25 мл абсолютноого метанолу нагрівають протягом 5 год зі зворотним холодильником. Охолоджують, розводять водою. Осад відфільтровують, сушать. Вихід — 1,93 г (90 %). Кристалізують із метанолу. Т.пл. — 69—70°C.

ІЧ-спектр, см⁻¹: 1728 ($\nu_{C=O}$), 1588 (ν_{C-Ph}), 1524 ($\nu^{as}_{NO_2}$), 1348 ($\nu^s_{NO_2}$), 1252 (ν_{C-O-C}), 744 (ν_{C-Cl}). Спектр — 1H -ЯМР, м.ч.: 3,92 (3Н, с, CH_3), 7,80—8,61 (3Н, мAr-H).

2'-метиланілід 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти (IVb)

Спосіб А. До 2,15 г (0,01 моль) метилового ефіру 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти в 10 мл метанолу додають 1,50 г (0,014 моль) о-толуїдину. Суміш нагрівають до розчинення вихідних речовин і витримують 5—7 год. Після чого реакційну суміш розбавляють водою. Осад, що утворився, відфільтровують, сушать. Вихід — 2,61 г (54 %). Кристалізують із водного етанолу.

Аналогічно одержували сполуки IVa, IVb, IVg—е.

Спосіб Б. У 20 мл сухого діоксану розчиняють 2,75 г (0,0125 моль) хлорангідриду 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти та при охолодженні краплями додають 2,68 г (0,025 моль) о-толуїдину та 0,98 г (0,0125 моль) піридину. Суміш витримують дві години, підкислюють HCl (1:1) до рН=3. Осад, що утворився, відфільтровують, сушать. Вихід — 2,9 г (88 %). Кристалізують із водного етанолу.

Аналогічно одержували сполуки IVa, IVb, IVe, IVe.

Спосіб В. Суміш 2,01 г (0,01 моль) 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти, 1,77 г (0,025 моль) тіонілхлориду кип'ятять 25—30 хв без розчинника. Надлишок тіонілхлориду відганяють і після охолодження додають 2,14 г (0,02 моль) о-толуїдину та 0,7 мл (0,01 моль) триетиламіну і витримують 30 хв і розводять водою. Осад відфільтровують, сушать. Вихід — 2,67 г (92 %). Аналогічно одержували сполуки IVa, IVb, IVg—е. Замість тіонілхлориду можна використовувати PCl_5 (0,015 моль).

Суміш продуктів, одержаних різними способами, депресії температури топлення не дає.

Висновки

1. На підставі аналізу відомих способів синтезу та власних досліджень запропоновано препаративну методику синтезу алкіл- та ариламідів 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти в одну технологічну стадію.

2. Будову та індивідуальність синтезованих речовин підтверджено зустрічним синтезом, даними елементного, ІЧ-, УФ-, ПМР-спектрального і хроматографічного аналізів.

3. Встановлено, що аміди 6-нітро-2-хлорбензойної кислоти виявляють помірну жовчогінну, антиоксидантну, мембронопротекторну, діуретичну, фунгістатичну та слабку бактеріостатичну активність і відносяться до класу малотоксичних речовин.

1. Андрюков К.В. Синтез, свойства и биологическая активность моно(ди)бром-замещенных производных антраниловой кислоты, изучения связи строения с действием с использованием констант ионизации и квантово-химических расчетов: Автoref. дис. ... канд. фармац. наук. — Пермь, 2006. — 17 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2006. — 528 с.
3. Дроговоу С.М., Ісаєв С.Г., Алексеєва Л.М. та ін. // Ліки. — 2002. — № 1/2. — С. 64–68.
4. Ісаєв С.Г., Павлій О.О., Березнякова Н.Л. та ін. // Там же. — 2005. — № 5/6. — С. 56–59.
5. Ісаєв С.Г. // Фармац. журн. — 2000. — № 6. — С. 52–55.
6. Ісаєв С.Г., Яременко В.Д., Зупанець І.А. та ін. // Вісник фармації. — 1998. — № 2 (18). — С. 18–20.
7. Кобзар Н.П. Синтез, будова та біологічна активність бром- і сульфомоїлзамінених орто-хлорбензойних N-R-антранілових кислот та їх похідних: Дис. ... канд. фармац. наук. — Х., 2008. — 157 с.
8. Левитин Е.Я., Антоненко О.В., Кабачний В.И. и др. // Провизор. — 1999. — № 13. — С. 38–39.
9. Павлій О.О. Синтез, хімічні перетворення, біологічна активність похідних орто-галогенбензойних, N-фенілантранілових кислот та 9-аміноакридину: Автoref. дис. ... канд. фармац. наук. — Х., 2008. — 20 с.
10. Павлій О.О., Ісаєв С.Г., Сокуренко І.А. // Ліки. — 2003. — № 5/6. — С. 82–85.
11. Пат. 61313A України, МПК C07C 237/00, A61K 31/165. Похідні орто-галоген-бензойної кислоти, які проявляють протизапальну, анальгетичну, жовчогінну, антиоксидантну, антибактеріальну та фунгістатичну активність / О.А.Бризицький, С.Г.Ісаєв, Є.М.Древаль та ін. (Україна). — Опубл. 17.11.03, Бюл. № 14.
12. Пат. 48039 України, МПК C07C 237/00, A61K 31/165. 3',4'-диметиланілід 2-хлорбензойної кислоти, що проявляє антиоксидантну та жовчогінну активність / С.Г.Ісаєв, І.С.Шульга, С.М.Дроговоу та ін. (Україна). — Опубл. 15.08.02, Бюл. № 8.
13. Luddens H., Lang H., Korpi E. // European journal of Pharmacology. — 1998. — Hol. 344, Iss. 2/3. — P. 269–277.
14. Peixoto F., Vicente J., Madeira V. // Biochem. Mol. Toxicol. — 2003. — Vol. 17, № 3. — P. 185–192.
15. Petzinger E. // Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. — 1992. — Vol. 99, № 10. — P. 412–415.
16. Sugita Y., Nagao T., Urushidani T. // European journal of Pharmacology — 1999. — Vol. 365, Iss. 1. — P. 77–89.

Надійшла до редакції 01.04.2009.

С.Г.Ісаєв, О.А.Близнюк, О.А.Павлій, Л.М.Алексеєва, Н.Е.Шевелева

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЛКИЛ- И АРИЛАМИДОВ 6-НИТРО-2-ХЛОРБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

Ключевые слова: синтез, 6-нитро-2-хлорбензойная кислота, биологическая активность

Разработана одностадийная препаративная методика получения алкил- и ариламидов 6-нитро-2-хлорбензойной кислоты. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа, ИК-, УФ-, ПМР-спектров, встречным синтезом, а индивидуальность — методом хроматографии в тонком слое сорбента.

Установлено, что амиды 6-нитро-2-хлорбензойной кислоты по классификации К.К.Сидорова относятся к классу малотоксичных веществ и проявляют желчегонную, мембранопротекторную, антиоксидантную, диуретическую и фунгистатическую активность. Установлены некоторые закономерности взаимосвязи «структура—биологическая активность».

S.G.Isaev, O.A.Blyzniuk, O.O.Pavley, L.M.Alekseeva, N.E.Shevleva

SYNTHESIS, STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF ARYL- AND ALCYLAMIDES OF 6-NITRO-2-CHLORBENZOIC ACID

Key words: synthesis, 6-nitro-2-chlorbenzoic acid, biological activity

SUMMARY

Preparative methods in one stage of receiving aryl- and alkylamides of 6-nitro-2-chlorbenzoic acid has been carried out. The composition of synthesized compounds was proved by the data of element, IR-, UV-, NMR-spectra and counter synthesis and the purity was controlled by the method of thin-layer chromatography.

It was established, that amides of 6-nitro-2-chlorbenzoic acid belong to low toxic compounds according to classification by K.K. Sydorov and have bile-expelling, membraneprotective, antioxidant, diuretic, fungistatic activity. These investigations helped to determine some behavior among conformation and biological activity of these biologically compounds.



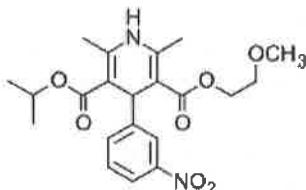
Ю.В.ТИМОШИК, аспірант, В.В.ПЕТРЕНКО, д-р фармац. наук, проф.

Запорізький державний медичний університет

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІМОДИПІНУ ЗА ЙОГО РЕАКЦІЄЮ З ГІДРОКСИДОМ НАТРІЮ ТА ВАЛІДАЦІЙНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДИКИ

Ключові слова: німодипін, гідроксид натрію, спектрофотометрія, кількісне визначення, валідація аналітичної методики

Німодипін-2,6-диметил-3-ізопропоксикарбоніл-5-(2-метоксіетоксикарбоніл)-4-(3-нітрофеніл)-4-(RS)-1,4-дигідропіридин є селективним блокатором кальцієвих каналів з переважним впливом на судини головного мозку [3].



На ринку України препарат представлено п'ятьма торговельними назвами п'яти виробників, які випускають його у вигляді таблеток та розчину для інфузій.

За даними літератури відомо, що визначення німодипіну в лікарських формах проводять методами газової та рідинної хроматографії [4,7], похідної спектрофотометрії [4]. Запропоновано метод спектрофотометрії у видимій ділянці спектра за його реакцією з гідроксипропілбетациклодекстрином [9]. Існують метод рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією [8] та метод ВЕРХ з діодним визначенням [5]. Також використовують біоаналітичні методи в аналізі даного препарату [6].

Більшість цих методів потребують певного обладнання або є складними у виконанні, бо пов'язані з застосуванням малодоступного кольорореагента, тому розробка нових, специфічних та простих у виконанні способів визначення німодипіну у лікарських формах є доцільною.

Мета роботи: вивчення реакції німодипіну з гідроксидом натрію, розробка на цій основі методики його кількісного визначення в лікарській формі (таблетки) та встановлення її валідаційної характеристики.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження була лікарська форма таблетки «Немотан 30 мг» (серія A2G046MF7-08), що містить як допоміжні речовини повідон, мікрокристалічну целюлозу, крохмаль кукурудзяний, кросповідон, магнієвий стеарат. Як стандарт застосовували субстанцію німодипіну (серія 010505п309).

У роботі використовували реагенти та розчинники, що відповідають вимогам АНД: ДМФА – кваліфікації ч.д.а., воду очищено (ДФУ), гідроксид натрію кваліфікації ч.д.а.; аналітичне обладнання – спектрофотометр «SPECORD 200» – 222U214, терези АДВ – 200.

Експериментально нами було встановлено, що розчин німодипіну в середовищі ДМФА реагує з гідроксидом натрію при кімнатній температурі з утворенням продукту реакції жовтого кольору з максимумом поглинання при 446 нм. Межа виявлення для німодипіну, розрахована за загальновідомою методикою [2], становить 23 мкг/мл.

Підпорядкування основному закону світлопоглинання перебуває в межах концентрації німодипіну 2,4–4,8 мг/100 мл.

Розрахунок вмісту німодипіну у грамах у готовій лікарській формі проводили методом стандарти.

Методика кількісного визначення німодипіну в таблетках

Витробуваний розчин. Таблетки, що аналізували, розтирали в порошок. Наважку таблеткової маси в межах 0,10–0,20 г розчиняли у ДМФА в колбі місткістю 25 мл, доводили до позначки тим самим розчинником, переміщували, фільтрували. Перші порції фільтрату відкидали. 2 мл даного розчину вміщували в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 0,2 мл 5% розчину гідроксиду натрію і доводили ДМФА до позначки, переміщуючи.

Розчин порівняння. 0,0150 г (точну наважку) субстанції німодипіну вміщували в мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняли в ДМФА, ретельно перемішуючи, доводили цим самим розчинником до позначки. 2 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 0,2 мл 5% водного розчину гідроксиду натрію і доводили ДМФА до позначки.

Оптичну густину досліджуваного розчину та розчину порівняння вимірювали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 446 нм у кюветах з шаром завтовшки 1 см.

Розрахунок вмісту німодипіну в грамах у перерахунку на середню масу таблетки проводили за формулою

$$X = \frac{A \cdot C_0 \cdot M_{cp} \cdot 25 \cdot 25}{A_0 \cdot a \cdot l \cdot 2 \cdot 100},$$

де: A — оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 — оптична густина стандартного розчину;

C_0 — концентрація стандартного розчину (0,0024 г/100 мл);

M_{cp} — середня маса таблеток, г;

a — наважка таблеткової маси, г;

l — товщина шару, см.

Таблиця 1

Вимоги до вмісту німодипіну ($\pm 10\%$ від вмісту діючих речовин) [2]

Лікарська форма	Проба, що аналізується	Знайдено, г в перерахунку на середню масу таблетки	Вміст німодипіну згідно з ДФУ
Таблетки «Немотан», вміст німодипіну 30 мг Серія A2G046MF7-08	Наважка таблеткової маси, 0,1002 г–0,1905 г	0,0278–0,0318	0,027–0,033 г

Валідація аналітичної методики

Згідно з вимогами ДФУ [2] методики кількісного визначення, що включаються до аналітичної нормативної документації, мають бути валідовані.

Нами була проведена валідація аналітичної методики «кількісне визначення» для готового лікарського засобу — таблетки «Немотан» по 30 мг за основними валідаційними характеристиками — лінійністю, точністю, правильністю, робасністю згідно із стандартизованою процедурою валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарти [1, 2].

Діапазон застосування (range) аналітичної методики. Нами обрано діапазон застосування від 80 % до 120 % згідно з методиками кількісного визначення за ДФУ [2].

Стабільність розчинів у часі (робасність). Стійкість аналізованого розчину у часі є найважливішою характеристикою. Нами був обраний діапазон часу — 1 год. Отримані результати наведені в табл. 2. Як видно з даних, наведених у табл. 2, $\Delta_t \leq \text{тах} \delta = 1,02\%$, отже розчини стабільні протягом 1 год, але потрібно враховувати той факт, що продукт реакції розкладається навіть після одного опромінення.

Таблиця 2

Результати вивчення стабільності досліджуваного розчину та розчину порівняння

№	t, хв, A _t							Середнє	RSD, %	Δ _t %	maxδ, %
	0	10	20	30	40	50	60				
1	0,6241	0,6228	0,6086	0,6083	0,6230	0,6102	0,6129	0,6157	1,18	0,018	1,02
2	0,6208	0,6167	0,6129	0,6103	0,6177	0,6110	0,6129	0,6146	0,63	0,0095	

Перевірка незначущості фонового поглинання.

Вплив плацебо

Вимірювали оптичну густину (A_{blank}) розчину плацебо, отримуючи не менше ніж три вимірювання з вийманням кювети. Паралельно вимірювали оптичну густину (A_{st}) розчину порівняння. Було визначено: $A_{blank} = -0,0350$, $A_{st} = 0,6251$. Внеску плацебо в сумарне поглинання немає.

Збіжність та правильність досліджуваної методики визначали одночасно. Оптичну густину всіх дев'яти розчинів вимірювали при аналітичній довжині хвилі і встановлювали відношення знайденої концентрації до введеної у відсотках (табл. 3).

Таблиця 3

Результати перевірки правильності та збіжності

№ модельного розчину	Наважки німодипіну, мг ($m_{st}=0,015$)	Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{\text{і факт}} \%$)	Оптичні густини A _t	Знайдено у % до концентрації розчину порівняння (Y, %)	Знайдено у % до введеного Z _t =100(Y/X _t)
1	0,012	80	0,5238	80,15	100,19
2	0,01275	85	0,5557	85,03	100,04
3	0,0135	90	0,5883	90,02	100,02
4	0,01425	95	0,6210	95,03	100,03
5	0,015	100	0,6535	100,00	100,00
6	0,01575	105	0,6859	104,96	99,96
7	0,0165	110	0,7165	109,64	99,67
8	0,01725	115	0,7528	115,20	100,17
9	0,018	120	0,7862	120,31	100,26
Середнє Z _t					100,04
Відносне стандартне відхилення, S _t %					0,17
Відносний довірчий інтервал Δ _t % = t(95%, 8) S _t = 1,860 · S _t					0,32
Критичне значення для збіжності результатів Δ %					3,20
Систематична похибка δ = Z - 100					0,04
Критерій невизначеності систематичної похибки δ ≤ Δ / 3 = 0,32 / 3 = 0,11					Виконується
Загальний висновок щодо методики					Коректна

Розрахунок параметрів лінійної залежності $Y = b \cdot X + a$ проводили за допомогою методу найменших квадратів.

Одержані величини b , a , S_b , S_a (стандартні відхилення для b і a), S_r (залишкове стандартне відхилення) і r (кофіцієнт кореляції) наведені у табл. 4, а отримана в нормалізованих координатах пряма — на рис. 1.

Таблиця 4

Метрологічні характеристики лінійної залежності

Величина	Значення	Критерій для допуску, число точок – 9	Висновок (відповідає чи ні)
b	0,99875	—	—
S_b	0,005129	—	—
a	0,087257	≤ 1,8946 · S _a = 0,9801	Відповідає
S_a	0,517308	—	—
S_r	0,198856	≤ 1,24	—
r	0,999908	≥ 0,99236	Відповідає

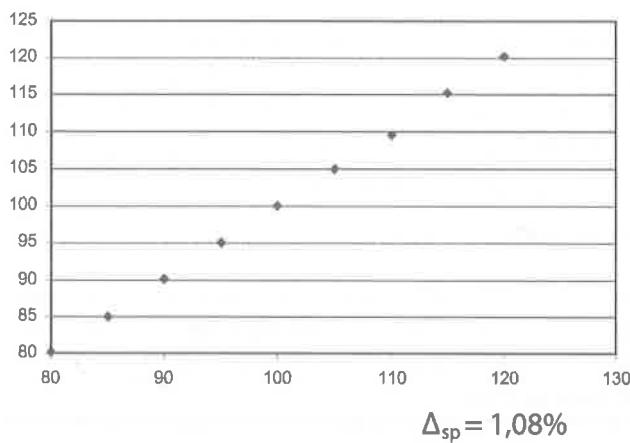


Рис. 1. Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації німодипіну в нормалізованих координатах

Прогноз повної невизначеності методики.

Прогноз повної невизначеності пробопідготовки.

Розрахунки проводили, використовуючи формулу АНД, а також підхід і невизначеності мірного посуду.

$$\Delta_{sp} = 1,08\%$$

$$\sqrt{\Delta_{sp}^2 + \Delta_{FAO}^2} = 1,29\%$$

Повна невизначеність аналітичної методики
Кількісне визначення:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{sp}^2 + \Delta_{FAO}^2} = 1,29\%$$

$$\Delta_{As} = 1,35\% \leq \max \Delta_{As} = 3,20\%.$$

Як видно, повна невизначеність результатів не перевищує критичного значення 3,20 %.

Висновки

1. Розроблено високочутливу методику кількісного визначення німодипіну в таблетках з гідроксидом натрію.
2. Здійснено валідацію методики кількісного визначення на прикладі готового лікарського засобу «Немотан», таблетки по 30 мг.
3. Встановлено, що методика валідована та відповідає вимогам ДФУ за специфічністю, лінійністю, точністю та робасністю.

1. Гризодуб А. И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В. и др. // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 1–15.
2. Державна фармакопея України: Доп. 1. – Х.: РІРЕГ, 2004. – С. 85–100.
3. Харкеевич Д.А. Фармакология. – 8-е изд., перераб., доп. и исправл. – М.: «ГЕОТАР-МЕД», 2004. – 298 с.
4. G. Ragno, M. Veronico and C. // International J. of Pharmaceutics. – 1995. – Vol. 119. – P. 115–119.
5. Kowalczuk D, Wawrycka M.B., Haratym Maj A. // J. AOAC Int. 2006. – Vol. 89(1). – P. 71–7.
6. Mück W., Bode H. // Pharmazie. – 1994. – Vol. 49(2-3). – P. 130–139.
7. Nirogi RV, Kandikere VN, Maurya S, Mudigonda K, Boosi R. // Ibid. – 2006. – Vol. 61(10). – P. 828–34.
8. Qin F, Ma Y, Wang Y, Chen L, Wang D, Li F. // J. Pharm Biomed Anal. – 2008. – Vol. 13; 46(3). – P. 557–62.
9. Yang X., Ke W., Zi P., Liu F., Yu L. // J. Pharm Sci. 2008. – Vol. 97(7). – P. 2702–19.

Надійшла до редакції 04.02.2010.

Ю.В. Тимошик, В.В. Петренко

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИМОДИПИНА ПО ЕГО РЕАКЦИИ С ГИДРОКСИДОМ НАТРИЯ И ВАЛИДАЦИОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДИКИ

Ключевые слова: нимодипин, гидроксид натрия, спектрофотометрия, количественное определение, валидация аналитической методики

Предложен спектрофотометрический анализ количественного определения нимодипина в таблетках, в основе которого лежит реакция взаимодействия с гидроксидом натрия. Метод характеризуется достаточной чувствительностью и простотой выполнения.

SPECTROFOTOMETRIC DETERMINATION OF NIMODIPINE
BY REACTION WITH SODIUM HYDROXIDE AND VALIDATION OF THE ANALYTICAL
METHOD

Key words: nimodipinum, sodium hydroxide, spectrophotometric method, quantitative determination, validation of the analytical method

S U M M A R Y

The method of quantitative spectrophotometric identification of tablets is worked out. This method is based on the interaction preparation reaction of nimodipine with sodium hydroxide. This method is sufficient sensitive and easy executable.

The standartization of assay procedures validation of nimodipine in tablets have been carried out.

УДК 547.193:015.25.07

А.Г.КАПЛАУШЕНКО, канд. фармац. наук, О.І.ПАНАСЕНКО, д-р фармац. наук,
проф., Є.Г.КНИШ, д-р фармац. наук, проф., С.О.ВАСЮК, д-р фармац. наук, доц.,
О.О.ТАРХАНОВА

Запорізький державний медичний університет

**РОЗРОБКА МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО АНАЛІЗУ ОСНОВНОЇ РЕЧОВИНИ І
МОЖЛИВИХ ДОМІШОК У СУБСТАНЦІЇ МОРФОЛІНІЙ 2-(5-(4-ПРИДИЛ)-4-
(2-МЕТОКСИФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТУ**

Ключові слова: 1,2,4-триазоли, метод аналізу

Створення нових оригінальних лікарських засобів є досить складним завданням, яке стосується вітчизняної та закордонної науки і техніки. Даний процес базується на великій кількості етапів хімічних, аналітичних, біохімічних, фармакологічних, клінічних та інших досліджень.

Виявлені нами високі показники антиоксидантної, антигіпоксичної, антиішемічної та детоксикуючої активностей [6–8] морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату [3–5], а також отримані дані, що свідчать про нешкідливість даної сполуки [2, 10, 11], є одним з перших кроків на шляху створення оригінального лікарського засобу.

Одним з етапів створення вітчизняного препарату є створення аналітичної нормативної документації, у тому числі розробка методів кількісного аналізу основної речовини і можливих домішок. Усе вищезазначене було метою нашої роботи.

У ході експерименту нами розроблено метод кількісного визначення основної речовини в субстанції морфоліній 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату неводним потенціометричним титруванням [1]. Кількісний вміст основної речовини підтверджено хроматомас-спектрометричним методом. При цьому нами виявлено домішку 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти, а також встановлено, що її кількість становить 0,1 %.

Експериментальна частина

Розробка методу неводного потенціометричного визначення морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату.

0,200 г субстанції розчиняють при нагріванні у 50 мл кислоти ацетатної безводної. Розчин охолоджують і титрують 0,1 м розчином кислоти перхлоратної потенціометрично, використовуючи систему скляного та хлорсрібного електродів.

1 мл 0,1 м розчину кислоти перхлоратної відповідає 21,475 мг морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату.

Об'єм титранту в точці еквівалентності $V_{екв}$, при потенціометричному титруванні визначали за графіком (V ; $\Delta E/\Delta V$), де V — об'єм доданого титранту, ΔE — зміна електрорушійної сили (е.р.с.), ΔV — відповідний приріст об'єму титранту. Титрування проводили тричі. За результатами титрування розраховували відсотковий вміст морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату за формулою

$$C\% = \frac{V \cdot T \cdot K_n \cdot 100}{a},$$

де: V — об'єм доданого титранту;

T — титр за речовиною, що визначається (0,021475 г/мл);

K_n — коефіцієнт поправки (1,0544);

a — маса наважки, г.

Результати титрування різних наважок субстанції наведені в таблицях 1—3. Визначення об'єму титранту в точці еквівалентності проводили за відповідними графіками (рис. 1—3).

Визначення відсоткового вмісту морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату знаходили як середнє трьох експериментів:

$$C\% = \frac{99,05 + 99,12 + 99,20}{3} = 99,12\%.$$

Таблиця 1

Залежність е.р.с. від об'єму титранту (перший дослід)

a	V, мл	ΔV	E, мВ	ΔE	$\Delta E/\Delta V$
0,1966	0		1,30		
	1,00	1	1,20	0,10	0,10
	2,00	1	1,10	0,10	0,10
	3,00	1	0,95	0,05	0,05
	4,00	1	0,80	0,05	0,05
	5,00	1	0,60	0,20	0,20
	6,00	1	0,40	0,20	0,20
	7,00	1	0,10	0,30	0,30
	8,00	1	-0,30	0,40	0,40
	8,20	0,20	-0,55	0,15	0,75
	8,40	0,20	-0,80	0,25	1,25
	8,60	0,20	-1,15	0,35	1,75
	8,80	0,20	-1,35	0,20	1,00
	9,00	0,20	-1,50	0,15	0,75
	9,20	0,20	-1,65	0,15	0,75
	9,40	0,20	-1,75	0,10	0,50
	9,60	0,20	-1,85	0,10	0,50
	9,80	0,20	-1,90	0,05	0,25
	10,00	0,20	-1,95	0,05	0,25
	10,50	0,50	-2,10	0,15	0,30
	11,00	0,50	-2,25	0,15	0,30
	11,50	0,50	-2,35	0,10	0,20
	12,00	0,50	-2,45	0,10	0,20
	13,00	1,00	-2,65	0,20	0,20
	14,00	1,00	-2,85	0,20	0,20

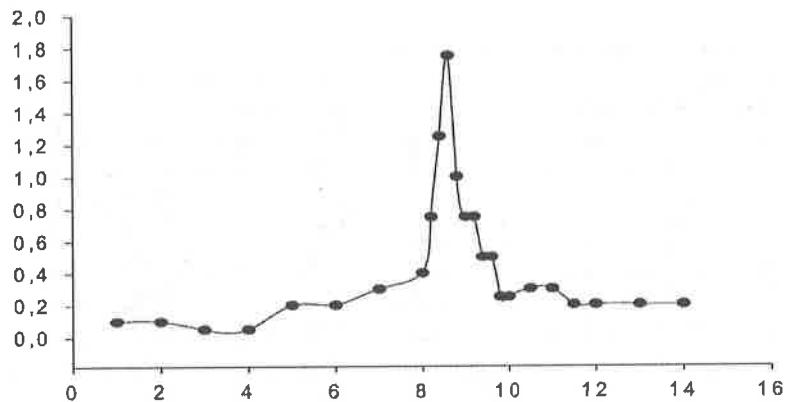


Рис. 1. Графік залежності зміни е.р.с. (ΔE) від об'єму титранту (V) (перший дослід) $V_{екв.} = 8,60$ мл; $C\% = 99,05$

Таблиця 2

Залежність е.р.с. від об'єму титранту (другий дослід)

a	V , мл	ΔV	E, мВ	ΔE	$\Delta E/\Delta V$
0,2193	0		2,08		
	1,00	1	1,78	0,30	0,30
	2,00	1	1,63	0,15	0,15
	3,00	1	1,47	0,16	0,16
	4,00	1	1,32	0,15	0,15
	5,00	1	1,10	0,22	0,22
	6,00	1	0,89	0,21	0,21
	7,00	1	0,62	0,27	0,27
	8,00	1	0,36	0,26	0,26
	9,00	1	-0,35	0,71	0,71
	9,20	0,20	-0,62	0,27	1,35
	9,40	0,20	-0,87	0,25	1,25
	9,60	0,20	-1,23	0,36	1,80
	9,80	0,20	-1,46	0,23	1,15
	10,00	0,20	-1,62	0,16	0,80
	10,20	0,20	-1,78	0,16	0,80
	10,40	0,20	-1,88	0,10	0,50
	10,60	0,20	-1,96	0,08	0,40
	11,00	0,40	-2,11	0,15	0,38
	12,00	1	-2,36	0,25	0,25
	13,00	1	-2,59	0,23	0,23

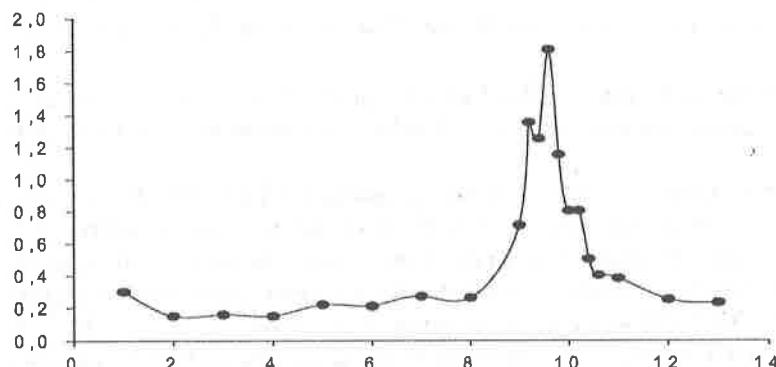
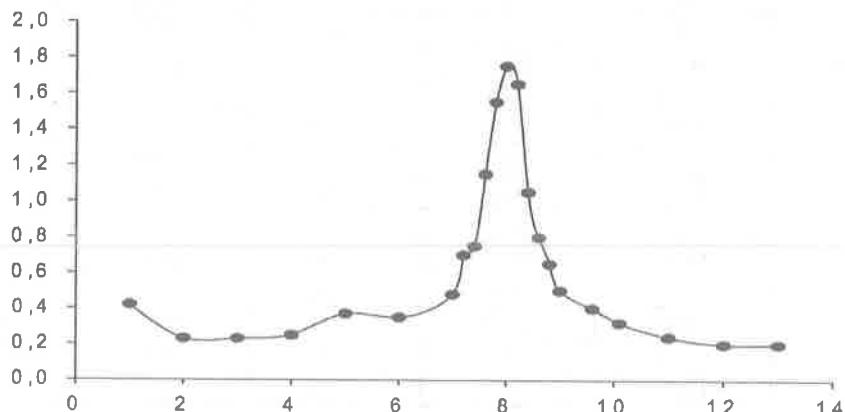


Рис. 2. Графік залежності зміни е.р.с. (ΔE) від об'єму титранту (V) (другий дослід) $V_{екв.} = 9,60$ мл; $C\% = 99,12$ %

Таблиця 3

Залежність е.р.с. від об'єму титранту (третій дослід)

a	V, мл	ΔV	E, мВ	ΔE	$\Delta E/\Delta V$
0,1826	0		2,40		
	1,00	1	1,98	0,42	0,42
	2,00	1	1,75	0,23	0,23
	3,00	1	1,52	0,23	0,23
	4,00	1	1,27	0,25	0,25
	5,00	1	0,90	0,37	0,37
	6,00	1	0,55	0,35	0,35
	7,00	1	0,07	0,48	0,48
	7,20	0,20	-0,07	0,14	0,70
	7,40	0,20	-0,22	0,15	0,75
	7,60	0,20	-0,45	0,23	1,15
	7,80	0,20	-0,76	0,31	1,55
	8,00	0,20	-1,11	0,35	1,75
	8,20	0,20	-1,44	0,33	1,65
	8,40	0,20	-1,65	0,21	1,05
	8,60	0,20	-1,81	0,16	0,8
	8,80	0,20	-1,94	0,13	0,65
	9,00	0,20	-2,04	0,10	0,50
	9,60	0,60	-2,28	0,24	0,40
	10,10	0,50	-2,44	0,16	0,32
	11,00	0,90	-2,66	0,22	0,24
	12,00	1	-2,86	0,20	0,20
	13,00	1	-3,06	0,20	0,20

Рис. 3. Графік залежності зміни е.р.с. (ΔE) від об'єму титранту (V) (третій дослід) $V_{еко.} = 8,00$ мл; $C\% = 99,20$ %

Кількісне визначення морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксиfenіл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату та можливих домішок хроматомас-спектрометричним методом

Після перекристалізації для морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксиfenіл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату були зняті хроматомас-спектри.

Хроматомас-спектри знімали на високоефективному рідинному хроматографі «Agilent 1100 Series», оснащенному діодно-матричним та мас-селективним детектором «Agilent LC / MSD SL». Параметри аналізу: колонка «Zorbax SB-C18» – 1,8 мкм, 4,6 мм x 15 мм. Сольвенти: А – ацетонітрил–вода (95:5), 0,05 % метанової кислоти, В – вода (0,05 % метанової кислоти); потік елюенту – 3 мл/хв. Градієнт: 0 хв – 0 % А, 0,01 хв – 0 % А, 0,5 хв – 100 % А, 0,95 хв – 100 % А, 0,96 хв – 0 % А. Об'єм

проби, що вводиться, — 1 мкл. Спосіб іонізації — хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Режим іонізації — одночасне сканування позитивних та негативних іонів у діапазоні мас 80—100 m/z .

Нами встановлено, що вміст основної речовини у субстанції становить 99,9 %, як домішки у субстанції виявлено 0,01 % 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти.

У мас-спектрі (рис. 4) [9] морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (брото-формула $C_{20}H_{23}N_5O_4S$, мол. маса — 429 а.ом., час виходу — 0,757) зареєстровано пік M^+ з m/z 343, що підтверджує наявність у структурі 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетат-іона. Фрагментація даної сполуки відбувається з відщепленням карбоксильної групи з утворенням іона з m/z 297.

Висновки

1. Розроблено ефективний метод визначення основної речовини у субстанції морфоліній 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату неводним потенціометричним титруванням.

2. За допомогою хроматомас-спектрів підтверджено будову основної речовини, а також встановлено, що її кількісний вміст у субстанції відповідає вимогам ДФУ.

3. Для домішки, що виявлена в субстанції, встановлено структуру і визначено кількісний вміст.

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 36—41, 187.
2. Каплаушенко А.Г. // Запорож. мед. журн. — 2007. — № 1 (40). — С. 104—107.
3. Каплаушенко А.Г., Панасенко О.І., Книш Є.Г. та ін. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. — 2007. — Вип. XX. — С. 70—78.
4. Каплаушенко А.Г., Книш Є.Г., Панасенко О.І. // Фармац. часопис. — 2007. — Т. 1, № 1. — С. 32—35.
5. Каплаушенко А.Г., Панасенко О.І., Книш Є.Г. та ін. // Фармац. журн. — 2008. — № 2. — С. 67—72.
6. Лук'янчук В.Д., Каплаушенко А.Г., Рензяк С.Я. та ін. // Запорож. мед. журн. — 2008. — № 4 (49). — С. 127—129.
7. Пат. 37922 Україна. Морфоліній 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-3-ілтіо)ацетат, що має антигіпоксичну активність з термопротекторними властивостями, та його лікарські форми / Каплаушенко А.Г., Лук'янчук В.Д., Рензяк С.Я., Книш Є.Г., Панасенко О.І. — Заявл. 28.07.2008; — Опубл. 10.12.2008. — Бюл. № 23.
8. Пат. 37927 Україна. Морфоліній 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-3-ілтіо)ацетат, що проявляє антиоксидантну і детоксикучу активності / Каплаушенко А.Г., Лук'янчук В.Д., Панасенко О.І., Книш Є.Г., Чадова Л.В., Рисухіна Н.В. — Заявл. 28.07.2008; — Опубл. 10.12.2008. — Бюл. № 23.
9. Полякова А.А., Хмельницький Р.А. Мас-спектрометрия в органіческій хімії. — Л.: Хімія, 1987. — 350 с.
10. Прозоровский В.Б. // Журн. общей биологии. — 1960. — Т. 21, № 3. — С. 221—228.
11. Сидоров К.К. // Токсикология новых пром. веществ. — М., 1973. — Вып. 13. — С. 45—71.

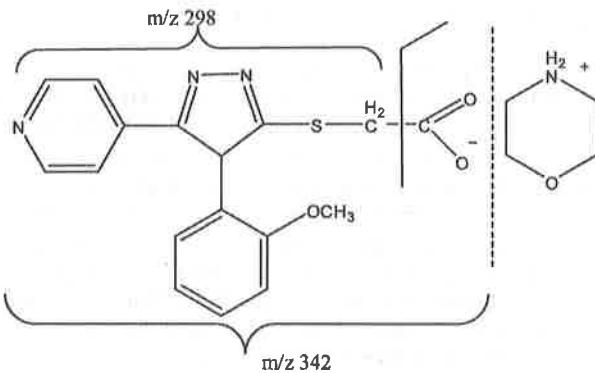


Рис. 4. Схема розщеплення молекули морфоліній 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату під впливом електронного удару

А.Г.Каплаушенко, А.И.Панасенко, Е.Г.Кныш, С.А.Васюк, О.А.Тарханова

РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ОСНОВНОГО ВЕЩЕСТВА И ВОЗМОЖНЫХ ПРИМЕСЕЙ В СУБСТАНЦИИ МОРФОЛИНИЙ 2-(5-(4-ПИРИДИЛ)-4-(2-МЕТОКСИФЕНИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО)АЦЕТАТА

Ключевые слова: 1,2,4-триазоли, метод анализа

Разработан метод количественного определения основного вещества в субстанции морфолиний 2-(5-(4-пиридинил)-4-(2-метоксифенил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетата неводным потенциометрическим титрованием. Количественное содержание основного вещества подтверждено хроматомассспектрометрическим методом. При этом нами определена примесь, проведена её идентификация и установлено количественное содержание.

A.G.Kaplaushenko, A.I.Panasenko, E.G.Knysh, S.A.Vasjuk, O.A.Tarhanova

WORKING OUT OF THE QUANTITATIVE ANALYSIS METHOD
FOR BASIC SUBSTANCE AND POSSIBLE ADMIXTURES
IN THE SUBSTANCE MORFOLINIY 2-(5-(4-PYRIDIL)-4-(2-METHOKSIPHENIL)-1,2,4-TRIAZOL-
3-ILTHIO)ACETATE

Key words: 1,2,4-triazol, an analysis method

S U M M A R Y

The method of quantitative definition of the basic substance was developed by anwater potheniometric titration in the substance of morfoliniy 2-(5-(4-pyridil)-4-(2-methoksiphenil)-1,2,4-triazol-3-ilthio)acetate. The quantitative maintenance of the basic substance was confirmed by hromato-weights spectrometer method. We have defined an admixture, have established admixtures identification and its quantitative maintenance.

УДК 582.975:615.451

*П.Ю.ШІКРОБОТЬКО, асистент, Д.М.ПОПОВ, д-р фармац. наук, проф.,
М.С.ФУРСА, д-р фармац. наук, проф.*

*Запорізький державний медичний університет, НІІ фармації MMA
імені І.М.Сєченова,
Ярославська державна медична академія*

**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДНИХ ЕФІРІВ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК У НАСТОЯНКАХ
ВАЛЕРІАНИ РІЗНИХ ВИРОБНИКІВ**

Ключові слова: валеріана, настоянка, складні ефіри, спектрофотометрія

До широко застосовуваних у медичній практиці препаратів належить настоянка валеріани (*Tinctura Valeriana*). Вона являє собою рідину червоно-бурого кольору з характерним запахом і солодкувато-гірким пряним смаком. Її використовують як самостійно, так і у складі численних комбінованих препаратів [1, 4, 5–7]. Багато біологічно активних речовин валеріани лікарської (*Valeriana officinalis L. s. l.*) за хімічною природою є складними ефірами різних органічних кислот або легко перетворюються на них [1, 4–9]. Так, одними з основних седативно діючих речовин її підземних органів є біциклічні монотерпенові іridoїдні ефіри, які містять епоксидну групу, що отримали назву «валепотріати» (табл. 1). У зв'язку з наявністю цієї групи вони є досить нестійкими сполуками. Крім того, складні ефіри з

оцтовою та ізовалеріановою кислотами утворюють монотерпеноїдні аліфатичні (гераніол, цитронелол), моноциклічні (карвеол, а-терпінеол) і біциклічні (міртенол) речовини, а також сесквітерпеноїдні біциклічні (валеренол, фауронол, каноконол, оксивалеранон) і трициклічні (кесанол) речовини. Найбільш різноманітні ефіри борнеолу з леточими аліфатичними (мурашина, оцтова, масляна) і нелеткими (ізовалеріанова) кислотами.

Якість настоянок залежить від процесу сушіння та способу подрібнення офіцинальної сировини, тривалості технологічного процесу та природи екстрагенту [5–9]. Так, вивчення якісного складу валепотріатів за допомогою хроматографії в тонкому шарі свідчить, що склад цих сполук і продуктів їх розпаду більш різноманітний у повітряно-сухих, подрібнених за вимогами ДФ, та вальцьованих кореневищах з коренями та настоянках, приготовлених з них, ніж у свіжозібраний фітомасі і настоянках з неї. Причому вміст валепотріатів у останніх дещо вищий, ніж у повітряно-сухій сировині, незалежно від способів його подрібнення [8].

При дослідженні настоянок, приготовлених з використанням 70 % спирту етилового, тобто розчинника, використовуваного нині для виробництва офіцинальної настоянки і суміші етанолу з ефіром у співвідношенні 5:3, раніше використовуваної для приготування спиртово-ефірної настоянки, відзначено, що вміст валепотріатів у спиртово-водних настоянках з повітряно-сухої вальцьованої або подрібненої за фармакопейними вимогами сировини вдвічі менший, ніж у спиртово-ефірній настоянці. При вивченні динаміки якісних змін та кількісного вмісту валепотріатів у 70 % етанольних витяжках кореневищ з коренями валеріани лікарської на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 21-й, 30-й та 60-й день досліджень виявлено, що їх максимальний вміст спостерігався на 7-й день настоювання, а постім цих сполук зменшувався. Так, через 2 тижні концентрація валепотріатів знизилася на 14 %, через місяць — на 26 %, через 2 місяці — на 43 %. Через рік валепотріати у нативному вигляді практично відсутні. Вже на 5-й день настоювання у спиртовій витяжці виявляється продукт розпаду валтрата (основного компонента серед валепотріатів) — балдринал.

Проведення кількісного визначення валепотріатів у настоянках для оцінювання їх якості вважають безглуздим, оскільки в них, можливо, містяться тільки продукти їх розпаду (табл. 1) [4]. Разом з тим вміст нативних валепотріатів у настоянках значною мірою залежить від того, з якої сировини (сухої або свіжої) вони приготовлені, та строку їх зберігання [5, 8].

За сучасними уявленнями, у значній мірі седативний ефект настоянок, як і інших лікарських форм валеріани, зумовлений синергізмом дії валепотріатів і сесквітерпеноїдів, зокрема, валеренової кислоти та її похідних (табл. 1). Вони є стабільнішими речовинами, ніж валепотріати. При розпаді останніх (табл. 1) настоянки валеріани повністю не втрачають седативних властивостей, оскільки в них містяться сесквітерпенові похідні, що є маркерними речовинами для валеріани лікарської [4].

Мета дослідження — провести кількісне визначення складних ефірів біологічно активних речовин у настоянках валеріани різних виробників.

Експериментальна частина

Об'єктами дослідження були настоянки валеріани, вироблені на фармацевтичних підприємствах у Тернополі, Києві, Іваново, Твері, Санкт-Петербурзі (табл. 2).

Як стандарт застосовували кислоту валеренову, отриману в НІІ фармації ММА ім. І.М.Сєченова. Крім того, при проведенні кількісних визначень використовували реактиви і розчинники, що відповідали вимогам АНД, та аналітичне обладнання — спектрофотометр «Scan 50».

За допомогою реакції з гідроксиламіном і хлоридом заліза окисного нами були виявлені складні ефіри біологічно активних речовин у настоянках валеріани. При

Таблиця 1

Структурні формули окремих седативно активних речовин кореневищ з коренями валеріан лікарської

Речовина	Структурна формула
Валепотріати	
Валтрат R ₁ =COCH ₃ R ₂ =R ₃ =COCH ₂ (CH ₃) ₂ Ізовалтрат R ₁ =R ₃ =COCH ₂ (CH ₃) ₂ R ₂ =COCH ₃ Ацевалтрат R ₁ =COCH ₂ (CH ₃) ₂ R ₂ =COCH ₂ COCH ₂ (CH ₃) ₂	
Продукти розпаду валепотріатів	
Балдринал R=COCH ₃ Гомбалдринал R=COCH ₂ (CH ₃) ₂ Деацілвалдринал R=H	
Сесквітерпеноїди	
Валеренон R ₁ =H R ₂ =CHO Валеренова кислота R ₁ =H R ₂ =COOH Ацетоксивалеренова кислота R ₁ =OCOCH ₃ R ₂ =COOH	
Борнеол та його ефіри	
Борнеол R=H Борнілацетат R=COCH ₃ Борнілізовалеріанат R=COCH ₂ (CH ₃) ₂	

подальшому їх дослідженні відзначили, що при кімнатній температурі утворюються продукти реакції червоно-малинового кольору з максимумом світлопоглинання при 512 нм.

Для кількісного визначення в настоянках складних ефірів біологічно активних речовин використовували таку методику: 10 мл тієї або іншої настоянки поміщали у випарувальну чашку й упарювали на киплячій водяній бані приблизно до 5 мл. Після охолоджування випарену витяжку поміщали в ділильну лійку, додавали 1 мл розведеної хлористоводневої кислоти. Випарувальну чашку промивали 5 мл води очищеної, промивну воду поміщали у ділильну лійку, в яку додавали також 15 мл суміші хлороформ — 95 % спирт етиловий (5:1) і збовтували протягом 3 хв. Після розшарування хлороформну витяжку фільтрували крізь паперовий фільтр з 3,0 г безводного натрію сульфату, змоченого сумішшю хлороформ — 95 % етанол (5:1), у випарувальну чашку. Витяжку діючих речовин повторювали двічі, використовуючи по 10 мл хлороформно-спиртової суміші, фільтруючи хлороформну витяжку крізь той самий фільтр у ту саму випарувальну чашку. Фільтр промивали 5 мл суміші хлороформ — 95 % етанол.

До хлороформних витяжок додавали 10 мл води очищеної, а хлороформ відганяли на киплячій водяній бані. Водну витяжку після охолоджування до кімнат-

ної температури фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 25 мл. Випарувальну чашку промивали 10 мл води, фільтруючи крізь той самий фільтр у ту саму мірну колбу, і доводили об'єм розчину в колбі до позначки.

У дві мірні колби місткістю 25 мл відміряли по 5 мл отриманого розчину. В одну з них додавали 5 мл лужного розчину гідроксиламіну гідрохлориду в метанолі і залишали на 20 хв. Після цього додавали 10 мл 1М розчину кислоти хлористоводневої, 5 мл 2 % розчину хлориду заліза окисного в метанолі (досліджуваний розчин) та вимірювали його оптичну щільність за допомогою спектрофотометра «Scan 50» при довжині хвилі 512 ± 5 нм у кюветі завтовшки 10 мм. Як розчин порівняння використовували вміст другої колби, доповнений 5 мл метанолу, 10 мл 1М розчину кислоти хлористоводневої та 5 мл 2 % розчину хлориду заліза окисного в метанолі [1, 3].

Збіг максимумів диференціальних спектрів поглинання продуктів реакції взаємодії вмісту першої колби і валереною кислоти з гідроксиламіном і хлоридом заліза окисного дав можливість використовувати валеренову кислоту як стандарт.

Вміст складних ефірів біологічно активних речовин у відсотках у перерахунку на валеренову кислоту обчислювали за формулою

$$X, \% = \frac{D \times 25 \times 25}{10,5 \times 10 \times 5} = \frac{D \times 12,5}{10,5},$$

де: D — оптична щільність випробовуваного розчину;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ — питомий показник поглинання продуктів реакції кислоти валереною з гідроксиламіном і хлоридом заліза окисного, рівний 10,5.

Результати визначень наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Вміст складних ефірів біологічно активних речовин у настоянках валеріані різних виробників

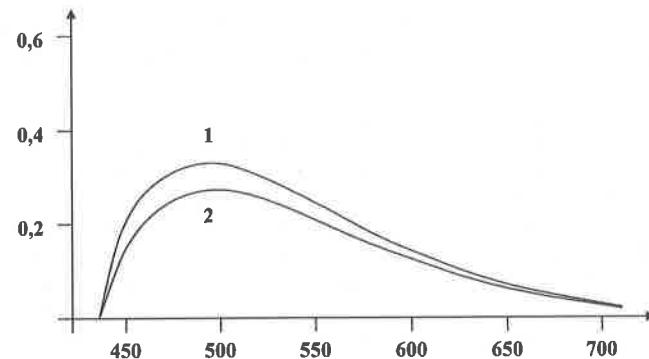
Виробник	Серія	D	X %
ВАТ «Фармацевтична фабрика», м. Тернопіль (конвалієво-валеріанові краплі)	71205	0,169	0,201
Державний експериментальний завод медичних препаратів ІБОХ НАН України, м. Київ	011003	0,423	0,504
ВАТ «Фармацевтична фабрика», м. Санкт-Петербург	30307	0,714	0,850
ВАТ «Фармацевтична фабрика», м. Іваново	060507	0,346	0,412
ВАТ «Фармацевтична фабрика», м. Твер	70607	0,365	0,435

При зберіганні настоянок вміст складних ефірів біологічно активних речовин у них зменшувався у середньому на 20–30 % протягом 4–6 місяців зберігання.

Дані, наведені у табл. 2, свідчать що вміст складних ефірів біологічно активних речовин у настоянках валеріані різних виробників досить різнисті, що, мабуть, зумовлено головним чином вмістом цих сполук у початковій сировині, що використовують при виробництві настоянок.

Висновки

1. Запропоновано спектрометричну методику кількісного визначення складних ефірів біологічно активних речовин за реакцією з гідроксиламіном і хлоридом заліза окисного та використанням як стандарту кислоти валереною.



УФ-спектри поглинання продуктів реакції взаємодії:

1 — валереною кислоти та 2 — витяжки з настоянок валеріані з гідроксиламіном і хлоридом заліза окисного

2. При кількісному визначенні аналізованих сполук виявлено, що найбільше їх містилося в настоянці виробництва фармацевтичної фабрики м. Санкт-Петербурга.

1. Ивлева Ж.Ю. Исследование по разработке методик анализа основных действующих веществ сырья и препаратов валерианы лекарственной: Автограф. дис. ... канд. фармац. наук. — Рязань, 2001. — 23 с.
2. Коренман И.М. Методы определения органических соединений. Изд. 2-е, пер. и доп. — М.: Химия, 1975. — 360 с.
3. Попов Д.М. и др. // Химико-фармац. журн. — 1986. — № 4. — С. 464–467.
4. Середа А.В., Середа Л.А., Бовтенко В.А. и др. // Фармаком. — 2007. — № 2. — С. 41–54.
5. Фурса Н.С. Изучение веществ первичного и вторичного обмена видов семейств крестоцветных и валериановых как хемотаксономических признаков и фармакологически активных средств: Дис. ... д-ра фармац. наук. — Ярославль, 1989. — 338 с.
6. Фурса Н.С. и др. Валериана в фитотерапии. — Томск: НТЛ, 1998. — 211 с.
7. Фурса Н.С. и др. Валерианотерапия нервно-психических болезней. — Запорожье: ИВЦ с/х, 2000. — 348 с.
8. Штыфурак М. П. и др. // Фармация. — 1985. — № 5. — С. 15–18.
9. Wagner H. et al. // Arzneimittel-Forsch. (Drug. Res.). — 1970. — Bd. 20, № 8. — S. 1149–1152.

Надійшла до редакції 28.07.2009.

П.Ю.Шкроботъко, Д.М.Попов, М.С.Фурса

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В НАСТОЙКАХ ВАЛЕРИАНЫ РАЗНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Ключевые слова: валериана, настойка, сложные эфиры, спектрофотометрия

С помощью спектрофотометрии определено содержание сложных эфиров биологически активных веществ в настойках валерианы разных производителей и отмечено, что оно не одинаковое.

P.J.Shkrobot'ko, D.M.Popov, N.S.Fursa

QUANTITATIVE DETERMINATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS COMPLEX ETHERS
CONTAINING IN VALERIANA CORDIALS OF DIFFERENT MANUFACTURERS

Key words: Valeriana, cordial, complex ethers, spectrophotometry

S U M M A R Y

The content of bioactive compounds complex ethers in Valeriana cordials of different manufacturers was determined by spectrophotometry method and it was established that their content in these cordials differs.

УДК 543.062

О.О.ЦУРКАН, д-р фармац. наук, проф., О.П.КОЛЯДИЧ, канд. фармац. наук,
Л.С.БОБКОВА, канд. хім. наук, С.А.ШКЛЯЄВ, канд. фармац. наук

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології» АМН України

СТАНДАРТИЗАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
ГАЛОТРАНКУ В ТАБЛЕТОВАНІЙ ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ

Ключові слова: галотранк, лікарська форма, стандартизація

Потенційний лікарський засіб (ЛЗ) на основі субстанції галотранку є оригінальним і не має аналогів у зарубіжних фармакопеях [1–6].

Для потенційного ЛЗ галотранку нами розроблено технологію виготовлення таблетованої лікарської форми. До складу таблеток входять такі компоненти: суб-

© Колектив авторів, 2010

станція галотранку — 0,5 г та допоміжні речовини — крохмаль; кальцію стеарату, моногідрат; тальк до маси таблетки — 0,55 г.

Для кількісного визначення субстанції галотранку в лікарській формі було запропоновано метод УФ-спектрофотометрії.

УФ-спектр розчину препарату має максимум поглинання за довжиною хвилі 302 ± 2 нм та збігається з УФ-спектром робочого стандартного зразка (РСЗ) галотранку.

Першим кроком до розробки методики кількісного визначення галотранку в таблетках було проведення УФ-спектрофотометричних досліджень спиртових розчинів субстанції галотранку для визначення концентрації галотранку в розчині, який придатний для спектрофотометричного вимірювання (табл. 1).

Таблиця 1

Визначення лінійної залежності оптичної густини від концентрації розчину галотранку методом УФ-спектроскопії

Концентрація субстанції (РСЗ) в розчині, мг/мл	Оптична густина розвину РСЗ	Розрахована теоретична пряма РСЗ	Відхилення експерим. даних від прямої, %
0,00025	0,01732	0,02936	41,00
0,00500	0,05437	0,05302	2,54
0,00100	0,09929	0,10034	1,04
0,00120	0,14015	0,14766	5,18
0,00250	0,23767	0,24230	1,92
0,00500	0,44695	0,47890	6,67
0,00750	0,69644	0,71551	2,67
0,01000	0,95576	0,95211	0,38

Лінійна залежність між концентрацією субстанції у розчині та оптичною густиною спостерігається в діапазоні концентрацій субстанції від 0,00025 мг/мл до 0,01 мг/мл (табл. 1). Однак відомо, що метрологічно придатним діапазоном спектрофотометричних вимірювань є діапазон оптичної густини 0,15—0,85.

Графік залежності оптичної густини від концентрації розчину субстанції як РСЗ наведено на рис. 1. На графіку простежується лінійна залежність типу $y = bX + a$, де $a = 0,0043$, $b = 93,49$, коефіцієнт кор. = 0,998981 ($n = 8$). Статистичні показники залежності $y = bX + a$ наведено в табл. 2.

Надалі ми поставили питання про відповідність коефіцієнта a нулю. Статистичні показники залежності $y = bX$ наведено в табл. 3. Статистичний показник $F = 0,268594$ є меншим, ніж значення коефіцієнта $t(P, f_1, f_2) = 5,99$. Це свідчить про те, що коефіцієнт a статистично не відрізняється від нуля. Таким чином, при $a = 0$ залежність $y = bX + a$ може бути представлена як $y = bX$, при цьому коефіцієнт $b = 94,13$. Це свідчить про відсутність постійної складової, яка зміщувала би пряму від початку координат.

Нами для метрологічної обробки аналітичних даних було розроблено таблицю у форматі табличного процесора «Microsoft Excel».

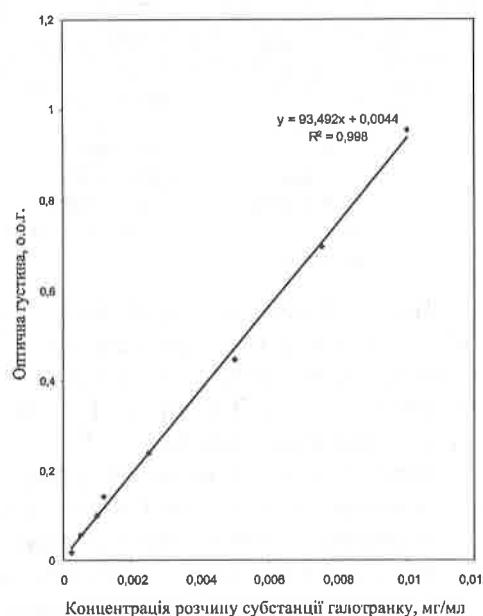


Рис. 1. Графік залежності оптичної густини від концентрації розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) галотранку

Таблиця 2

Статистичні показники залежності оптичної густини від концентрації розчину субстанції галотранку
 $y = bX + a$, де $a = 0,0043$, $b = 93,49$

$X(i)$	$Y(i)$	$X(i)^2$	$Y(i)^2$	$X(i)*Y(i)$	$X(i)+Y(i)$	$[X(i)+Y(i)]^2$
0,00025	0,01732	6,25E-08	0,0003	0,00000433	0,01757	0,0003087
0,0005	0,05437	0,00000025	0,0029561	0,000027185	0,05487	0,0030107
0,001	0,09929	0,000001	0,0098585	0,00009929	0,10029	0,0100581
0,0012	0,14015	0,00000144	0,019642	0,00016818	0,14135	0,0199798
0,0025	0,23767	0,00000625	0,056487	0,000594175	0,24017	0,0576816
0,005	0,44695	0,000025	0,1997643	0,00223475	0,45195	0,2042588
0,0075	0,69644	0,00005625	0,4850287	0,0052233	0,70394	0,4955315
0,01	0,95576	0,0001	0,9134772	0,0095576	0,96576	0,9326924

$$\begin{aligned} f &= 6 & S_0 &= 0,0165 & \text{(int)} b &= 4,22 & \text{Determ lmt} &= 0,00036 \\ b &= 93,49 & S_a &= 0,0084 & \text{betta}(o) &= 0,00435 & Q_S &= 0,001651 \\ S_Q &= 0,00165 & S_b &= 1,72 & \text{betta} &= 93,49 \\ S_o^2 &= 0,00027522 & (\text{int}) a &= 0,020 & t(0,95,f) &= 2,45 \end{aligned}$$

де: $X(i)$ — концентрація розчину, мг/мл;
 $Y(i)$ — оптична густина;
 $X(i)*Y(i)$ — похідні параметрів $X(i)$, $Y(i)$;
 $X(i)+Y(i)$ — сума параметрів $X(i)$, $Y(i)$;
 $[X(i)+Y(i)]^2$ — квадрат суми параметрів $X(i)$, $Y(i)$;
 f — число ступенів свободи;
 a — вільний член лінійної залежності;

b — кутовий коефіцієнт лінійної залежності;
 $X(i)^2$, $Y(i)^2$ — квадрати параметрів $X(i)$, $Y(i)$;
 S_Q — сума квадратів;
 S_o^2 — загальна дисперсія;
 S_0 , S_a , S_b — стандартні відхилення;
 a — довірчий інтервал коефіцієнта a ;
 $t(0,95,f)$ — коефіцієнт Стьюдента;
 $r(x)$ — коефіцієнт кореляції;
 Determ lmt — межа виявлення, мг/мл.

Таблиця 3

Порівняння коефіцієнта a з нулем прямої типу $y = a + bx$ та можливості переходу до $y = bx$

n	$X(i)$	$Y(i)$	$X(i)^2$	$Y(i)^2$	$X(i)*Y(i)$	$X(i)+Y(i)$	$[X(i)+Y(i)]^2$
1	0,00025	0,01732	6,25E-08	0,0003	0,00000433	0,01757	0,0003087
2	0,0005	0,05437	0,00000025	0,0029561	0,000027185	0,05487	0,00301072
3	0,001	0,09929	0,000001	0,0098585	0,00009929	0,10029	0,01005808
4	0,0012	0,14015	0,00000144	0,019642	0,00016818	0,14135	0,01997982
5	0,0025	0,23767	0,00000625	0,056487	0,000594175	0,24017	0,05768163
6	0,005	0,44695	0,000025	0,1997643	0,00223475	0,45195	0,2042588
7	0,0075	0,69644	0,00005625	0,4850287	0,0052233	0,70394	0,49553152
8	0,01	0,95576	0,0001	0,9134772	0,0095576	0,96576	0,9326928

$f = 6$	$t(0,95,f) = 2,45$	$f = 7$	$Sb^2 = 1,2954$
$a = 0,0043$	$Sb = 1,72$	$a = 0$	$(\text{int}) b = 2,68$
$b = 93,49$	$(\text{int}) a = 0,020$	$b = 94,13$	$t(0,95,f) = 2,36$
$S_Q = 0,00165$	$(\text{int}) b = 4,22$	$S_Q = 0,00172$	$f_1 = 1$
$S_o^2 = 0,0002752$	$r(x) = 0,99898$	$S_o^2 = 0,0002465$	$f_2 = 6$
$S_0 = 0,0165$	$\text{Determ lmt} = 0,00036$	$S_0 = 0,0156$	$t(P, f_1, f_2) = 5,99$
$S_a = 0,0084$		$F = 0,26$	$\text{Resume: } a = 0$

При розробці методу було визначено оптимальну для УФ-досліджень концентрацію галотранку в розчині, яка становить близько 0,0075 мг/мл (див. табл. 1). Діапазон концентрації для кількісного визначення субстанції галотранку, для якого виконується закон Ламберта—Бугера—Бера, становить від 0,0012 до 0,0100 мг/мл. Межа виявлення — 0,00036 мг/мл.

Проведені дослідження були покладені в основу УФ-спектрофотометричної методики визначення активної речовини (галотранку) в лікарській формі — таблетках.

У лабораторних умовах у відділі синтезу фізіологічно активних речовин було напрацьовано 5 серій дослідних таблеток по 30 таблеток у кожній серії, в яких міститься відома кількість субстанції галотранку (500 мг — в 1 таблетці), та проведено кількісне визначення галотранку в них. Відносна похибка методики ϵ , розрахована методом математичної статистики, для 5 паралельних визначень активної речовини в таблетках, з надійністю $P = 0,95$ становить не більше ніж 2,75 % (табл. 4).

Таблиця 4

Метрологічна характеристика спектрофотометричного кількісного визначення галотранку в таблетці

μ	F	x*	S ²	S	P, %	t(p,f)	Δx	$\epsilon, \%$
0,500	4	0,4976	0,0001213	0,00493	95,0	2,78	0,030	2,75
0,508								
0,495								
0,480								
0,505								

Висновки

- Для кількісного визначення галотранку в таблетках запропоновано метод УФ-спектрофотометрії та розроблено методику кількісного визначення.
- Межа виявлення галотранку в таблетках становить 0,00036 мг/мл та оптимальна концентрація галотранку у випробуваному розчині таблеток близько 0,0075 мг/мл.

1. Державна фармакопея України. Доповнення 1.—Х.: РІРЕГ, 2004. — 520 с.
2. Державна фармакопея України. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под ред. В.П.Георгиевского, Ф.А.Конева. — Х: ООО «РИРЕГ», 1996. — 784 с.
4. British Pharmacopoeia, 2003.
5. The United States Pharmacopoeia (USP 24). The National Formulary (NF 19). — Philadelphia, 2000. — 2569 р.
6. European Pharmacopoeia Supplement. — 2001.

Надійшла до редакції 07.12.2009.

A.A.Цуркан, Е.П.Колядич, Л.С.Бобкова, С.А.Шкляєв

СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГАЛЛОТРАНКА В ТАБЛЕТИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

Ключевые слова: галотранк, лекарственная форма, стандартизация

Проведена стандартизация методики количественного определения галотранка в таблетированной лекарственной форме. При разработке методики УФ-спектрофотометрии количественного определения галотранка была определена оптимальная концентрация его в растворе. Установлен диапазон концентраций, для которого выполняется закон Ламберта—Бугера—Берра. Установлена чувствительность метода. Определены статистические характеристики.

O.O.Thzurkan, O.P.Kolyadich, L.S.Bobkova, S.A.Shkliaiev

ASSAY PROCEDURE STANDARDIZATION OF GALOTRANK TABLETS

Key words: galotrank, medicine, standardization

SUMMARY

Assay procedure standardization of Galotrunk substance in its tablets was carried out. Optimal concentration of the substance in test and reference solutions for UV-spectrophotometry method was defined. Linearity and other metrological characteristics of the procedure were researched. Statistical characteristics are defined.

ФАРМАКОКІНЕТИЧНІ ПОКАЗНИКИ ЛІКАРСЬКИХ ПЛІВОК З КОНТРОЛЬОВАНИМ ВИВІЛЬНЕННЯМ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН

Ключові слова: константа швидкості, концентрація, діюча речовина, період напіврозкладу, фармакокінетика, лікарський засіб, діаліз, німесулід, цефтриаксон, лікарська плівка

Фармакокінетика відіграє значну роль у фармації. Дослідження залежності швидкості реакції від різних факторів дає можливість інтенсифікувати технологічні процеси виготовлення лікарських засобів (ЛЗ). Фармакокінетичні дослідження, пов'язані з вивченням швидкості засвоєння і виведення ЛЗ із організму, дають змогу інтерпретувати механізми їх фізіологічної дії [2, 4].

Кінетичні закони хімічних процесів лежать в основі оптимізації пошуку діючих речовин (ДР), дають можливість вивчати реакційну здатність, встановлювати механізми хімічної взаємодії [3, 5, 7]. Тому предметом наших досліджень є експериментальне вивчення впливу температури та інших параметрів на швидкість розкладу ДР, зокрема, німесуліду та цефтриаксону, що дає можливість науково обґрунтувати й обрати раціональну технологію виготовлення.

Варіюючи фармацевтичні фактори, можна надати ЛЗ спрямованої дії – прискорити біологічну доступність або пролонгувати її. ЛЗ, що застосовують у стоматології, безумовно, повинні мати пролонговану дію для підтримки постійної терапевтичної концентрації у вогнищі ураження. Це дає змогу з меншою періодичністю застосовувати як плівку, так й інші ЛЗ для комплексного лікування пародонтитів.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами дослідження є лікарські плівки (ЛП) під умовною назвою «Цефонім». Середня маса однієї плівки становить 3000 мкг із вмістом цефтриаксону 2,73 мкг і німесуліду – 54,5 мкг.

Для вивчення фармакокінетичних параметрів ЛЗ використовували метод *in vitro*, який характеризує повноту вивільнення активних речовин із лікарської форми (ЛФ) у модельну рідину. Методом *in vitro* встановлювали порядок кінетичної реакції для вибору моделі визначення фармакокінетичних параметрів методом *in vivo*.

Кінетичні властивості зразків вивчали за допомогою біологічної мембрани (знежирена кишка) при температурі $34 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Визначення кінетичних параметрів ЛЗ проводили методом діалізу через напівпроникну мембрانу. Для цього застосовували камеру, яка складалася з двох циліндрів, діаметром 50 та 70 мм відповідно кожний [1, 3].

Для визначення кінетичних параметрів ЛЗ з одного боку біологічної мембрани поміщали 1 cm^2 плівки «Цефонім». Внутрішній циліндр разом із зразком поміщали до діалізної камери, в яку заздалегідь наливали певну кількість води. Камеру розташовували між трубами теплообмінника і всю систему закривали в спеціальну коробку з пенопласту, що забезпечувало термоізоляцію. Після відбору проб (10 мл) періодично об'єм води у діалізній камері доводили до початкового рівня (50 мл) і нові проби брали через 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 та 90 діб.

Визначення ДР проводили відповідно до *Ph. Eur* методом ВЕРХ [6].

Результати дослідження та їх обговорення

Результати експериментальних досліджень наведено у табл. 1.

На підставі даних, наведених в табл. 1, будували графічну залежність вивільненої речовини від часу в логарифмічному масштабі ($\lg \%$).

Отримані результати свідчать про те, що вивільнення цефтриаксону із ЛП підпорядковується кінетичному рівнянню першого порядку (рис. 1).

За нахилом ліній на рис. 1 можна вирахувати швидкість реакції вивільнення ЛР, яка зводиться до визначення константи швидкості вивільнення.

Швидкість реакції вивільнення ЛР визначали за формулою (1).

$$K_B = \frac{\lg C_{(1)} - \lg C_{(2)}}{t_2 - t_1}, \quad (1)$$

де: K_B — швидкість реакції вивільнення, с^{-1} ;

$C_{(1)}$, $C_{(2)}$ — концентрації вивільненої речовини за час t_1 , t_2 і t_2 , t_3 ;

t_1 , t_2 — час, с.

Для цефтриаксону швидкість реакції вивільнення становить:

$K_{B1} = 6,94 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$; $K_{B2} = 3,24 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$;

$K_{B3} = 2,19 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$; $K_{B4} = 1,62 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$;

$K_{B5} = 0,58 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$; $K_{B6} = 0,46 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$;

$K_{B7} = 0,58 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$.

Для німесуліду визначений показник дорівнює:

$K_{B1} = 5,09 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$; $K_{B2} = 3,47 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$;

$K_{B3} = 2,20 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$; $K_{B4} = 1,62 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$;

$K_{B5} = 0,64 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$; $K_{B6} = 0,52 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$;

$K_{B7} = 0,46 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$.

Після встановлення порядку реакції і швидкості реакції вивільнення діючих речовин визначали константу швидкості. Константа швидкості — це швидкість діалізу в

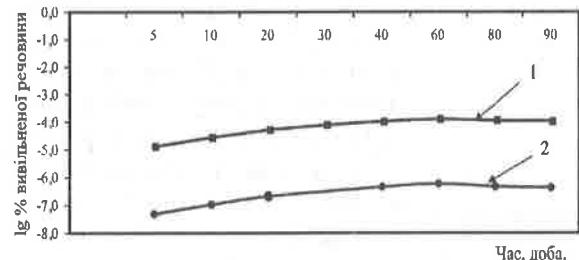


Рис. 1. Кінетична залежність вивільнення німесуліду та цефтриаксону із ЛП «Цефонім» від часу:
1 — німесулід; 2 — цефтриаксон

Таблиця 1
Кількість вивільненої речовини (німесулід/цефтриаксон), мкг

№ проби	Концентрація вивільненої речовини (німесулід/цефтриаксон), мкг							90 доб		
	5 доб	10 доб	20 доб	30 доб	40 доб	60 доб	80 доб	90 доб		
1	1,08	0,48	2,20	1,03	4,76	2,12	7,42	3,27	10,21	4,50
2	1,10	0,45	2,32	1,07	4,72	2,22	7,39	3,42	10,23	4,62
3	1,07	0,40	2,44	0,99	4,80	2,05	7,42	3,53	10,25	4,33
4	1,09	0,48	2,29	1,05	4,81	2,18	7,43	3,18	10,19	4,42
5	1,12	0,46	2,35	0,98	4,72	2,17	7,40	3,22	10,21	4,55
$X \pm \Delta X$	$1,09 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,03$	$2,32 \pm 0,09$	$1,02 \pm 0,04$	$4,76 \pm 0,07$	$2,15 \pm 0,02$	$7,41 \pm 0,04$	$3,24 \pm 0,02$	$10,22 \pm 0,11$	$4,84 \pm 0,02$
										$5,72 \pm 0,02$
										$12,96 \pm 0,02$
										$10,53 \pm 0,05$
										$4,60 \pm 0,05$
										$0,59 \pm 0,14$
										$4,57 \pm 0,14$
										$9,82 \pm 0,14$
										$9,50 \pm 0,14$
										$4,22 \pm 0,14$
										$4,27 \pm 0,09$
										$\pm 0,09$

Примітка: Н — німесулід, Ц — цефтриаксон.

даний момент і в даних умовах. Константу швидкості визначали за формулою

$$k = \frac{2,303}{t} \lg \frac{C_0}{C}, \quad (2)$$

де: k — константа швидкості вивільнення, с^{-1} ;

t — час, с;

C_0 — початкова концентрація ЛР, %;

C — концентрація вивільненої ЛР через певні проміжки часу, %.

Для німесуліду та цефтриаксону параметр константи швидкості вивільнення в часі має такі відповідні значення:

$$\begin{array}{ll} k_1 = 0,14 \cdot 10; & k_1 = 2,54 \cdot 10; \\ k_2 = 0,09 \cdot 10; & k_2 = 1,13 \cdot 10; \\ k_3 = 0,041 \cdot 10; & k_3 = 0,55 \cdot 10; \\ k_4 = 0,026 \cdot 10; & k_4 = 0,35 \cdot 10; \\ k_5 = 0,018 \cdot 10; & k_5 = 0,25 \cdot 10; \\ k_6 = 0,012 \cdot 10; & k_6 = 0,16 \cdot 10; \\ k_7 = 0,09 \cdot 10; & k_7 = 0,12 \cdot 10; \\ k_8 = 0,08 \cdot 10; & k_8 = 0,11 \cdot 10. \end{array}$$

Після розрахунку відсотку вивільнення діючих речовин в модельну рідину будували залежність вивільнених речовин від часу.

Виходячи із розрахунків, можна стверджувати, що константа швидкості вивільнення для німесуліду зменшується від $0,14 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ до $0,08 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, а для цефтриаксону — від $2,54 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ до $0,11 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ відповідно. Це пов'язано з ЛФ, де завдяки осмотичній активності і в'язкості системи відбувається повільне вивільнення діючої речовини.

Дані рис. 2 і табл. 1 відображають, що відсоток вивільнення ДР через 5 діб для німесуліду становив 2 %, а для цефтриаксону — 1,8 % відповідно. Через 10 діб показники вивільнення ДР збільшилися майже в два рази і дорівнювали 4,2 % та 3,44 % відповідно. Далі крок збільшення вимірювань становив 10 діб в інтервалі від 10 до 40 діб. За цей період відбулося збільшення вивільнення ДР майже в 4 рази. Так, відсоток вивільнення ДР становив: через 20 діб — 8,7 % для німесуліду та 7,8 % для цефтриаксону; через 30 діб — 13,7 % для німесуліду та 12 % для цефтриаксону. Через 40 діб тенденція збільшення відсотку вивільнення ДР зберігається і становить 4 % (для німесуліду — 17,5 %, для цефтриаксону — 16,5 %). Протягом 60 діб відбувалося розрідження системи під дією біологічних рідин, відбувалася активна дифузія доти, доки не настало осмотична рівновага системи. Так, максимальний відсоток вивільнення ДР припав на 60 діб і становив майже 24 % для німесуліду і 21 % для цефтриаксону. Аналізуючи всі числові показники вивільнення ДР, можна зробити висновок, що процес швидкості вивільнення ДР відбувається контролювано відповідно до періодичності в ході досліджень. Далі протягом 20 діб спостерігається зменшення вивільнення ДР, однак кратність при цьому зберігається і становить 4 %. Так, через 80 діб відсоток вивільнення для німесуліду — 19,4 %, а для цефтриаксону — 17,1 %; через 90 діб — 16,9 % для німесуліду і 14,4 % — для цефтриаксону відповідно.

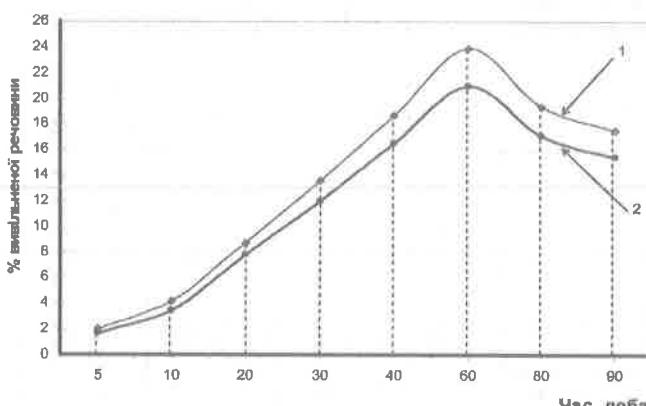


Рис. 2. Відсоткова залежність вивільнення німесуліду та цефтриаксону із ЛП «Цефонім» від часу: 1 — німесулід, 2 — цефтриаксон

Після 90 діб досліджень методом *in vitro* технологічно недоцільно стало проведення досліджень. Так, ураховуючи все вищезазначене, можна дійти висновку, що ЛП під умовною назвою «Цефонім» є системою з контролюваним вивільненням ДР.

Другою характеристикою швидкості вивільнення речовин є час, за який концентрація дифундуючої речовини зменшується наполовину від початкового значення — період напіврозкладу $t_{1/2}$:

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k}, \quad (3)$$

де: $t_{1/2}$ — період напіврозкладу, с;

k — константа швидкості вивільнення, с^{-1} .

Період напіврозкладу відповідно для німесуліду та цефтриаксону становить:

$t_{1/2,1} = 495\ 000$ с;	$t_{1/2,1} = 27\ 283$ с;
$t_{1/2,2} = 77\ 000$ с;	$t_{1/2,2} = 61\ 327$ с;
$t_{1/2,3} = 169\ 000$ с;	$t_{1/2,3} = 126\ 000$ с;
$t_{1/2,4} = 266\ 538$ с;	$t_{1/2,4} = 198\ 000$ с;
$t_{1/2,5} = 385\ 000$ с;	$t_{1/2,5} = 277\ 200$ с;
$t_{1/2,6} = 577\ 500$ с;	$t_{1/2,6} = 433\ 125$ с;
$t_{1/2,7} = 770\ 000$ с;	$t_{1/2,7} = 577\ 500$ с;
$t_{1/2,8} = 866\ 250$ с.	$t_{1/2,8} = 630\ 000$ с.

Кінетичні параметри, що характеризують процеси вивільнення ДР із ЛП під умовною назвою «Цефонім», наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Кінетичні параметри ЛП «Цефонім» в дослідах *in vitro*

Кінетичні параметри	Вивільнення німесуліду/цефтриаксону							
	5 діб	10 діб	20 діб	30 діб	40 діб	60 діб	80 діб	90 діб
німесулід								
k — константа швидкості процесу вивільнення, с^{-1}	$0,14 \cdot 10^{-4}$	$0,09 \cdot 10^{-4}$	$0,041 \cdot 10^{-4}$	$0,026 \cdot 10^{-4}$	$0,018 \cdot 10^{-4}$	$0,012 \cdot 10^{-4}$	$0,009 \cdot 10^{-4}$	$0,008 \cdot 10^{-4}$
$t_{1/2}$ — період напіврозкладу, с	49500	77000	169000	266538	385000	577500	770000	866250
цефтриаксон								
k — константа швидкості процесу вивільнення, с^{-1}	$2,54 \cdot 10^{-5}$	$1,13 \cdot 10^{-5}$	$0,55 \cdot 10^{-5}$	$0,35 \cdot 10^{-5}$	$0,25 \cdot 10^{-5}$	$0,16 \cdot 10^{-5}$	$0,12 \cdot 10^{-5}$	$0,11 \cdot 10^{-5}$
$t_{1/2}$ — період напіврозкладу, с	27283	61327	126000	198000	277200	433125	577500	630000

Висновки

Методом *in vitro*, який характеризує повноту вивільнення активних речовин із ЛФ у модельну рідину, встановлювали порядок кінетичної реакції. У результаті проведених досліджень визначено такі кінетичні параметри: швидкість реакції вивільнення діючих речовин, константу швидкості та період напіврозкладу. В ході досліджень доведено, що кінетичні процеси вивільнення діючих речовин з ЛП відбуваються за рівнянням першого порядку, що дає змогу використати в дослідах *in vivo* однокамерну фармакокінетичну модель. Встановлено, що процес вивільнення ДР із ЛП «Цефонім» відбувається контролювано в часі при збільшенні періоду напіврозкладу, що свідчить про уповільнення процесу.

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 стор. Доповнення 1. — 2004. — 520 с.
2. Каркищенко Н.Н., Хоронько В.В., Сергеєва С.А. Фармакокінетика. — Ростов н/Д; Фенікс, 2001. — 384 с.

3. I.M.Перцев, I.A.Зупанець, Л.Д.Шевченко та ін. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: У 2 т. — Т.2 / За ред. I.M.Перцева, I.A.Зупанця. — Х.: Вид-во НФАУ, 1999. — 448 с.
4. Ткаченко А.М., Перцев І.М. // Вісник фармації. — 2002. — № 3 (31). — С. 55—57.
5. Auclair B., Sirois G. Ngoc AH. Ducarme MP. Novel pharmacokinetics modelling of transdermal nitroglycerin // Pharmaceutical Research. — 1998. — Vol. 15, № 4. — P. 614—619.
6. European Pharmacopoeia. — 4-th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2001. — 2416 p.
7. Schlatter J., Di Blasi-Bouvet S., Raynaud F., Cisternino S. // Cell. Mol. Biol. — 1999. — Vol. 30, № 3. — P. 363—368.

Надійшла до редакції 07.12.2009.

Л.Л.Давтян, В.О.Тарасенко

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК С КОНТРОЛИРУЕМЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Ключевые слова: константа скорости, концентрация, действующее вещество, период полуразложения, фармакокинетика, лекарственное средство, диализ, нимесулид, цефтриаксон, лекарственная пленка

Проведены кинетические исследования методом диализа через полупроницаемую мембрану вследствие высвобождения действующих веществ из исследуемого лекарственного средства (ЛП «Цефоним») для установления фармакокинетических показателей. В ходе исследований установлено, что происходит во времени контролируемое высвобождение действующих веществ из лекарственных пленок под условным названием «Цефоним».

L.L.Davtyan, V.O.Tarasenko

FARMAKOKINETICHESKIH PARAMETERS OF MEDICINAL FILMS WITH CONTROL DETERMINATION ACTING SUBSTANCES

Key words: constant to velocities, concentration, acting substances, period of half of leadingout, farmakokinetics, medicinal facility, dialysis, nimesulide, ceftriaxon, medical film

S U M M A R Y

They are organized kinetic studies by method dialysis through haph determination membrane on effect determination acting material from under investigation medicinal films (LP «Cefonim») for the reason determinations farmakokinetics factors. As factors that in time decreases determination acting material from names film «Cefonim».

УДК 615.014.23:276

*М.О.БОЙКО, здобувач, О.І.ГЛАДКИХ, канд. біол. наук,
С.П.КУСТОВА, канд. фармац. наук*

*Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології
ім. В.Я.Данилевського АМН України», м. Харків*

РОЛЬ ДОПОМОЖНИХ РЕЧОВИН У ДОСЯГНЕННІ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ФЕНСУКЦИНАЛУ

Ключові слова: м'яка лікарська форма фенсукциналу, протизапальна активність, допоміжні речовини

Постановка проблеми в загальному вигляді. В ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України» протягом останніх років вивчають оригінальну сполучку фенсукцинал, експериментальні дослідження перорального застосування якої свідчать про наявність виражених антиоксидантних властивостей. Слід зазначити, що широкий спектр фармакологічної дії субстанції

фенсукциналу поєднується з низькою токсичністю ($\text{ЛД}_{50} > 13 \text{ г/кг}$) [5, 6]. Оскільки відомо, що антиоксиданти здатні пригнічувати активність цикло- та ліпооксигеназ, які відіграють ключову роль у процесах запалення, перспективність дослідження речовин з вищезазначенним біологічним ефектом як потенційних протизапальних засобів має теоретичне обґрунтування [2].

Формульовання мети даної роботи. Вивчення біологічної активності м'якої лікарської форми фенсукциналу та ролі її допоміжних речовин для досягнення ефекту.

Виклад основного матеріалу

На основі фенсукциналу було розроблено м'яку лікарську форму (МЛФ), яка є емульсійною системою з двома типами загущувачів (емульгатор № 1 або його комбінація з карбополом). Ураховуючи спорідненість з водою, тип дисперсної системи, концентрацію основної діючої та допоміжних речовин, можна вважати МЛФ фенсукциналу гідрофільним кремом без та з диметилсульфоксидом (ДМСО) або емульгелем, склад яких наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Склад м'якої лікарської форми фенсукциналу на емульсійній основі

Найменування компонента	Вміст, %		
	гідрофільний крем		емульгель
	без ДМСО	з ДМСО	
Фенсукцинал	1,0–3,0	1,0	1,0
ДМСО	—	1,0–5,0	5,0
Натрію лаурилсульфат	1,0–2,0	1,0	1,0
Карбопол 940	—	—	0,2–1,0
Емульгатор № 1	7,0	7,0–8,0	2,0–5,0
Гліцерин	20,0	20,0	20,0
Вазелінова олія	20,0	20,0	20,0
Вода очищена	до 100,0	до 100,0	до 100,0

Протизапальну дію оцінювали за допомогою визначення антиексудативної та антиальтеративної активності. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали параметричним методом з використанням *t*-критерію Стьюдента та визначенням показника вірогідності різниці (Р) [4].

Антиексудативну дію вивчали на моделі карагенінового набряку у щурів лінії Вістар масою тіла 150–220 г [1]. 1 % водний розчин карагеніну вводили субплантарно в дозі 0,1 мл у задню праву лапу, ліва була контролем. Вимірювання об'єму лап проводили за допомогою водяного онкометра через 3, 4, 5, 6 та 24 год після введення карагеніну. Зразки МЛФ фенсукциналу та препарат порівняння (гель натрію диклофенаку) застосовували зовнішньо на ділянку формування набряку через 1 год після введення карагеніну. Відповідно до рекомендацій щодо експериментального вивчення нестероїдних протизапальних речовин розраховували відсоток пригнічення набряку [1]. Отримані дані наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Динаміка зміни карагенінового набряку при застосуванні зразків м'якої лікарської форми фенсукциналу (% зниження відносно групи, обробленої плацебо), ($X \pm Sx$), n=5

Група	Час після початку терапії			
	3 год	4 год	5 год	6 год
Гель натрію диклофенаку	40,91±5,57	44,83±3,45	51,16±2,33	58,14±2,85
Гідрофільний крем фенсукциналу без ДМСО	10,49±2,02 ¹⁾	21,62±1,84 ¹⁾	17,49±2,61 ¹⁾	23,02±3,46 ¹⁾
Гідрофільний крем фенсукциналу з ДМСО	63,64±5,57 ¹⁾	65,52±5,45 ¹⁾	74,42±2,33 ¹⁾	79,07±2,33 ¹⁾
Емульгель фенсукциналу	54,55±10,16 ¹⁾	62,07±6,45 ¹⁾	62,79±2,33 ¹⁾	65,12±3,68

Примітка: ¹⁾ відхилення вірогідне відносно групи «Гель натрію диклофенаку» ($P < 0,05$).

Встановлено, що використання гідрофільного крему без ДМСО, який містить 1–3 % фенсукциналу, суттєво не впливало на розвиток набряку, що можна пояснити лише відсутністю його трансдермального ефекту за умов нанесення на неушкоджену шкіру. У той же час при застосуванні зразків МЛФ, що мали у своєму складі 1–5 % розчинника ДМСО, який сприяє пенетрації фенсукциналу, відмічали стійке пригнічення процесів ексудації протягом експерименту. Після введення гідрофільного крему з ДМСО зниження набряку через 3, 4, 5 та 6 год було вірогідно більш вираженим порівняно з групою, обробленою гелем натрію діклофенаку.

Емульгель фенсукциналу за протизапальню активністю на початок експерименту не поступався дії препарату порівняння, а на 4- та 5-й годині перевищував його ефект.

Подальше дослідження МЛФ фенсукциналу проводили на моделі асептичного запалення у щурів, що дає можливість відтворити альтеративну стадію запального процесу. Експериментальним тваринам вводили підшкірно 0,5 мл 9 % водного розчину оцтової кислоти з одночасною внутрішньо-очеревинною ін'єкцією 6 % розчину декстрану (300 мг/кг маси тіла). Розвиток запалення спостерігається через добу, а некротичне ураження — через тиждень. Зразки МЛФ фенсукциналу, плацебо та препарат порівняння застосовували зовнішньо одноразово щоранку на ділянку некротичного ураження. Як препарат порівняння за спектром фармакологічної дії було обрано мазь «Вундехіл» [3]. Антиальтеративну активність оцінювали за змінами площини некрозу в мм^2 через 5, 10, 15 та 20 діб після початку терапії [1]. Результати дослідження наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Динаміка зниження площини некротичного ушкодження шкіри при застосуванні м'якої лікарської форми фенсукциналу (% зниження відносно початкового рівня), ($\bar{X} \pm Sx$), n=5

Група	Час після початку терапії			
	5 діб	10 діб	15 діб	20 діб
Плацебо	18,58±2,07	53,22±3,73	76,14±0,48	90,02±0,71
Вундехіл	18,45±2,33	67,57±3,01	91,04±1,01	100 ²⁾
Гідрофільний крем фенсукциналу без ДМСО	48,92±1,68 ¹⁾²⁾	82,80±0,34 ¹⁾²⁾	95,91±0,49 ²⁾	100 ²⁾
Гідрофільний крем фенсукциналу з ДМСО	31,22±3,30 ¹⁾²⁾	84,33±1,27 ¹⁾²⁾	100 ¹⁾²⁾	100 ²⁾
Емульгель фенсукциналу	8,02±1,36 ¹⁾²⁾	63,02±2,31 ²⁾	94,87±0,45 ²⁾	100 ²⁾

П р и м і т к а : відхилення вірогідне: ¹⁾ відносно групи «Вундехіл» ($P < 0,05$); ²⁾ відносно групи «Плацебо» ($P < 0,05$).

З даних, наведених у табл. 3, видно, що зовнішнє застосування гідрофільного крему фенсукциналу без ДМСО сприяє більш швидкому загоєнню рані на відміну від групи тварин, оброблених плацебо. Процес загоювання вже на п'яту добу відбувався майже на 50 %, а повне рубцювання відмічали на 20-ту добу, що відповідало дії препарату порівняння («Вундехіл»).

Після використання емульгелю фенсукциналу динаміка зниження площини ушкодження шкіри була на рівні ефекту гідрофільного крему без ДМСО та «Вундехілу».

Слід зазначити, що тільки гідрофільний крем фенсукциналу з ДМСО виявляв вірогідно більш виражені нормалізуючі зміни порівняно з усіма досліджуваними групами протягом експерименту, а повне загоєння ран завершилося за 15 діб. При цьому процес загоєння уражень в експериментальних тварин, яких лікували маззю «Вундехіл», тривав на п'ять діб довше, а у групі з плацебо — на 10 діб.

Протизапальна активність за умов даної моделі для всіх досліджуваних МЛФ не залежала від наявності у складі ДМСО та характеру загущувача, що свідчить про здатність фенсукциналу проникати крізь ушкоджену поверхню шкіри.

Таким чином, вивчення біологічної дії МЛФ фенсукциналу різного складу довело наявність антиексудативного та антиальтеративного ефектів, які за активністю не поступалися препаратам порівняння, а навіть і перевищували їх.

Висновки

1. Проведено дослідження впливу м'якої лікарської форми фенсукциналу різного складу на всі стадії експериментального локального запального процесу.
2. Показано, що гальмування ексудативної фази гострого асептичного запалення спостерігається лише при використанні м'якої лікарської форми фенсукциналу, яка містить промотор диметилсульфоксиду.
3. Антиальтеративний ефект не залежить від складу м'якого засобу фенсукциналу, у найбільш перспективного зразка термін загоєння некротичного ушкодження був на 5 діб менше, ніж у препараті порівняння — мазі «Вундехіл».
4. Виявлено здатність м'якої лікарської форми фенсукциналу пригнічувати ексудативну та альтеративну стадії запалення свідчить про перспективність використання вищезазначених форм препарату як зовнішнього засобу для лікування запальних процесів.

1. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А. та ін. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В.Стефанова. — К., 2001. — С. 292—306.
2. Зубкова С.Т., Музь В.А. // Клініч. ендокринол. та ендокрин. хірургія. — 2005. — № 2. — С. 40—42.
3. Компендиум 2007. Лекарственные препараты / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: Морион, 2007. — 2270 с.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
5. Пат. 36464A UA, Бюл. № 3 (2001).
6. Полторак В.В., Горбенко Н.І., Гладких О.І. та ін. // Ендокринологія. — 1999. — Т. 4, № 2. — С. 128—134.

Надійшла до редакції 22.04.2009.

M.A.Бойко, A.I.Гладких, S.P.Кустова

РОЛЬ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ДОСТИЖЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ФЕНСУКЦИНАЛА

Ключевые слова: мягкая лекарственная форма фенсукцинала, противовоспалительная активность, вспомогательные вещества

Изучена противовоспалительная активность мягкой лекарственной формы фенсукцинала на экспериментальных моделях — каррагенинового отека и асептического воспаления у животных. Проведена оценка влияния растворителя и типа загустителя на биологическое действие мягкой лекарственной формы фенсукцинала.

M.A.Boyko, A.I.Gladkikh, S.P.Kustova

THE ROLE OF THE AUXILIARY SUBSTANCES IN THE ACHIEVEMENT OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF PHENSUCCINAL SEMI – SOLID PHARMACEUTICAL DOSAGE FORM'S

Key words: semi – solid pharmaceutical dosage form of phensuccinal, anti-inflammatory activity, auxiliary substances

SUMMARY

The anti-inflammatory activity of the semi-solid pharmaceutical dosage form of phensuccinal has been studied on the carrageenin oedema and aseptic inflammation experimental models in rats. The evaluation of the solvent and the type of structure-forming substances influence on the biological effect of phensuccinal ointment has been conducted.

Н.П.ПОЛОВКО, канд. фармац. наук, доц.

Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ РЕОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГЕЛЮ З БІФОНАЗОЛОМ

Ключові слова: реологічні властивості, гель біфоназолу

За даними ВООЗ, кожен 5-й житель нашої планети страждає на грибкове захворювання, найчастіше — це мікози стоп і кистей з ураженням нігтьових пластиночок. Кількість таких хворих, незважаючи на очевидні успіхи і досягнення медицини, збільшується. Поширеність грибкових захворювань пов'язана з погіршенням екологічної ситуації, неконтрольованим уживанням антибіотиків, антибактеріальних та інших лікарських речовин, стресами, незбалансованим харчуванням [2, 6, 10].

Незважаючи на досить широкий асортимент протигрибкових засобів, вдосконалення існуючих та створення нових ефективних та безпечних антимікотичних препаратів є актуальним завданням сучасної фармації [1, 6, 7].

Як протигрибкову субстанцію для дослідження впровадження у практичну медицину антимікотичного гелю нами обрано біфоназол — похідний імідазолу. Як й інші субстанції групи азолів, біфоназол інгібірує синтез ергостерину, змінює ліпідний склад мембрани, що забезпечує фунгістатичний ефект [1, 7]. Біfonазол — протигрибковий засіб широкого спектра дії, виявляє активність відносно дерматофітів, дріжджових (у тому числі роду *Candida*), плісневих грибків, його застосовують при грибкових захворюваннях шкіри: дерматофітіях, кандидозах, еритразмі, оніхомікозах та ін. [1, 6, 7]. Ураховуючи гідрофобні властивості даної субстанції, препарати на її основі випускають у вигляді мазей, кремів, розчинів, присипки [1, 7]. З допомогою попередніх досліджень ми розробили гель біфоназолу, що містить карбомер 980 на основі етилового спирту та неводних розчинників: гліцерину, пропіленгліколю, ПЕО-400.

Гелеву основу обрано, оскільки нині гелеві основи — найперспективніші для розробки нових м'яких лікарських форм (МЛФ). Численні реологічні дослідження мазевих основ свідчать, що гелеві основи порівняно з жировими, емульсійними типу вода/олія та олія/вода зберігають свої консистентні властивості при температурі шкіри людини [3—5]. МЛФ на основі похідних поліакрилової кислоти, що досить часто використовується у складі МЛФ, при нанесенні на шкіру утворюють тонку рівномірну плівку, яка забезпечує пролонгуючу дію, сприяє повному та рівномірному вивільненню лікарських речовин, не виявляє токсичної, у т.ч. шкірно-подразнююальної дії [3, 4, 9]. Крім того, вони мають ряд переваг порівняно з іншими мазевими основами: легко наносяться на шкіру, не розтікаються, не забруднюють одяг та білизну, виявляють охолоджувальну дію та ін. [3, 4]. Цілий ряд оптимальних властивостей гелевих основ забезпечується їх необхідними структурно-механічними параметрами.

Метою роботи було вивчення реологічних властивостей безводного гелю з біфоназолом на основі карбомеру 980.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження був антимікотичний гель з біфоназолом, що містить карбомер 980, спирт етиловий, гліцерин, пропіленгліколь та ПЕО-400. Визначення реологічних параметрів гелю проводили на віскозиметрі «BROOKFIELD HB DV-II PRO» (США) з циркуляційною банею в діапазоні швидкостей зсуву від $18,6 \text{ c}^{-1}$ до 93 c^{-1} .

Для дослідження використовували шпіндель SC4-21 для камери місткістю 8,3 г. Усі показники (значення в'язкості, напруга зсуву та градієнт швидкості зсуву) автоматично виводяться на дисплей приладу. Методика визначення структурної в'язкості полягає в такому: наважку зразка поміщали в камеру й опускали в неї обраний шпіндель, який приводили в обертання і фіксували значення в'язкості (η). Реологічні дослідження проводили при температурах 13, 20 та 34 °C, які відповідають передбачуваним температурам зберігання та проведення технологічного процесу виробництва гелю.

Результати дослідження та їх обговорення

Для визначення параметрів технологічного процесу й одержання стабільної лікарської форми на гелевій основі нами було проведено дослідження впливу лікарської субстанції на реологічні параметри основи та залежність реологічних властивостей від температури [3, 4, 8]. Крім того, досліджували структурно-механічні властивості лікарського засобу в процесі зберігання протягом двох років, через кожні 6 місяців. За результатами досліджень будували повні реограми плину розробленого лікарського засобу (рис. 1, 2).

Одержані реограми свідчать про псевдопластичний тип течії зразків (рис. 1). Встановлено, що при введенні біфоназолу не відбувається зміни типу течії порівняно з основою.

За результатами визначення залежності структурної в'язкості від температури встановлено, що при підвищенні температури від 13 °C до 34 °C відбувається певне зменшення структурної в'язкості. Експериментальні дані свідчать, що гель у діапазоні температур 13–34 °C має псевдопластичний тип течії. Дослідні зразки лікарського засобу характеризуються незначними тиксотропними властивостями, що підтверджується наявністю петель гістерезизу. При підвищенні температури площа петель гістерезизу поступово зменшується.

Дослідження залежності структурної в'язкості від градієнта швидкості зсуву для гелю біфоназолу при температурах 20 °C та 34 °C свідчить, що в'язкість композиції зменшується із збільшенням градієнта швидкості зсуву (рис. 3). Зниження в'язкості при певному фізичному впливі забезпечить точність та легкість дозування в ході технологічного процесу та оптимальну намазуваність при застосуванні лікарського засобу.

При визначенні структурно-механічних характеристик були розраховані коефіцієнти температурного (K_t) та динамічного (K_d) розрідження, які характеризують реологічні властивості препарату

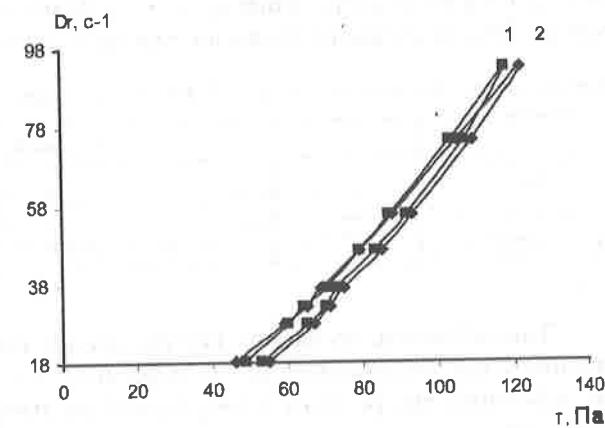


Рис. 1. Реограми гелевої основи (1) та гелю з біфоназолом (2) при температурі 20 °C

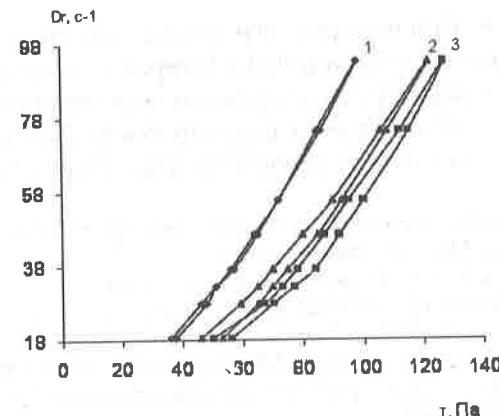


Рис. 2. Реограми гелю біфоназолу при таких температурах: 1 – 34 °C; 2 – 20 °C; 3 – 13 °C

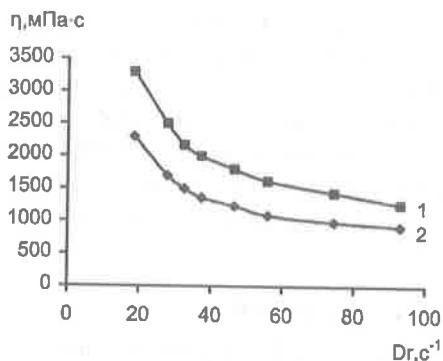


Рис. 3. Залежність структурної в'язкості гелю з біфоназолом від градієнта швидкості зсуву при таких температурах: 1 – 20 °C; 2 – 34 °C

гелю, близьке до 1 (1,18), свідчить про незначний ступінь руйнування структури каркасу гелю у процесі механічної дії та про наявність тиксотропних властивостей каркасу, завдяки яким гелева структура відновлюється після припинення механічної дії. При паралельному визначення механічної стабільності основи (1,16) встановлено, що введення біфоназолу не впливає на реологічні властивості основи.

Вивчення структурно-механічних властивостей розробленого лікарського засобу у процесі зберігання протягом 30 місяців через кожні 6 місяців свідчить про стабільність реологічних властивостей дослідного зразка (таблиця).

Значення структурної в'язкості гелю біфоназолу у процесі зберігання

Дослідний зразок	Значення в'язкості (η , мПас·с)					
	початкова	при зберіганні протягом				
		6 міс.	12 міс.	18 міс.	24 міс.	30 міс.
Гель біфоназолу	3300±10	3295±10	3290±15	3295±10	3290±15	3290±20

n = 5

Таким чином, проведені реологічні дослідження дають можливість зробити висновок про оптимальність та стабільність структурно-механічних властивостей розробленого лікарського засобу протягом передбачуваного терміну зберігання – 24 місяці.

В и с о в к и

1. Вивчено реологічні властивості безводного гелю з біфоназолом на основі карбомеру марки 980 в інтервалі температур від 13 °C до 34 °C. Визначено тип течії, наявність тиксотропних властивостей розробленого лікарського засобу.

2. Встановлено, що розроблений гель має оптимальні споживчі характеристики та стабільні реологічні властивості під час зберігання.

- Компендіум 2008 – Лекарственные препараты / Под редакцией В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. – К.:Марион, 2008. – 2120 с.
- Кулага В.В. Лечение заболеваний кожи. – К.: Здоров'я, 1988. – 300 с.
- Ляпунов Н.А., Воловик Н.В. // Фармаком. – 2001. – № 2. – С. 52–61.
- Назарова О.С. // Там же. – 2004. – № 2. – С. 59–65.
- Рибачук В.Д., Трутава І.В., Єгоров І.А. // Вісник фармації. – 2004. – № 2 (46). – С. 24–27.
- Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи: Руководство для врачей. – 2-е изд. – СПб: Питер, 2000. – 288 с.
- Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. – М.: АстраФармСервис, 2006. – 1632 с.

при нанесенні на шкіру та механічну стабільність (MC), що характеризує ступінь руйнування структури гелю у процесі необоротної деформації. Отримані дані ($K_d = 21,6$ та $K_t = 24,2$) підтверджують достатній ступінь розрідження дослідного зразка гелю при механічному та температурному впливі під час нанесення на шкіру, а також при інтенсивному перемішуванні в ході технологічного процесу, що забезпечує змішування лікарських та допоміжних речовин у гелевій основі та полегшує процес фасування. Коефіцієнт температурного розрідження ($K_t = 24,2$) свідчить про те, що розроблений препарат у досліджуваному температурному режимі є термостабільним. Розраховане значення «механічної стабільності»

8. Тихонов О.І., Михайлінко В.В., Жукова Т.В. // Вісник фармації. – 2007. – № 4 (52). – С. 29–31.
9. Carbopol Resins Handbook, BF Goodrich Company, Speciality Chemicals, 9921 Brecksville Road, Cleveland, Ohio 44141-3247.
10. Bolman P., Maloney J. // J. of the Amer. Acad. of Dermatol. – 2002. – Vol. 46, № 6. – P. 907–913.

Надійшла до редакції 26.05.2009.

Н.П.Половко

ИЗУЧЕНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЕЛЯ С БИФОНАЗОЛОМ

Ключевые слова: структурно-механические свойства, гель бифоназола

Изучены реологические свойства геля с бифоназолом. Исследована зависимость структурной вязкости от градиента скорости сдвига и температуры. Показано, что структурная вязкость геля уменьшается при повышении температуры и росте скорости сдвига. Определен тип течения и наличие тиксотропных свойств геля. Установлена стабильность структурно-механических свойств разработанного лекарственного средства в процессе хранения.

N.P.Polovko

STUDY OF REOLOGICAL STUDY OF GEL FROM OM BIFONAZOLOM

Key words: structurally mechanical properties, gel of bifonazol

SUMMARY

The reological properties of gel from bifonazolom and influence of medical substance are studied on reological property of basis. Investigational dependence of structural viscosity is on the gradient of speed of change and temperature. It is rotined that structural viscosity of gel diminishes at the increase of temperature and growth of speed of change. Certainly type of flow and presence of thixotropic properties of gel. Set stability structurally mechanical properties of the developed medication in a process.



УДК 615.015:661.718.6:591.481.1-005.4

О.В.КРИЛОВА

Луганський медичний університет

ПОРІВНЯЛЬНА ФАРМАКОКІНЕТИКА НОВОГО ПОТЕНЦІЙНОГО ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА ВІТІН-1 НА ЕТАПІ АБСОРБЦІЇ В НОРМІ І ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ

Ключові слова: фармакокінетика, координаційна сполука германію, ВІТІН-1, ішемічний інсульт

Нині проблема фармакотерапії гострого церебрального інсульту має важливе медичне і соціальне значення у зв'язку з відсутністю в існуючому арсеналі лікарів необхідної кількості високоефективних і безпечних лікарських засобів, що застосовують при даній патології [2, 11]. Саме цим можна пояснити зростаючу увагу спеціалістів до пошуку і розробки нових лікувально-профілактичних засобів, що застосовують при гострих ішемічних ураженнях головного мозку. Тому особливий інтерес становлять оригінальні германійорганічні сполуки, що мають відносно низьку токсичність та широкий спектр фармакологічних властивостей [7].

У процесі поглиблого доклінічного вивчення потенційного лікарського за-
собу, без сумніву, важливими є дослідження його фармакокінетичного профілю,

© О.В.Крилова, 2010

що дає можливість отримати цінну та всебічну інформацію про особливості різних етапів проходження препарatu в організмі. Крім того, інформація, що отримана при вивченні особливостей фармакокінетики потенційних ліків, є науково-методичною основою для розробки раціональної фармакотерапії [1, 9]. У цьому сенсі особливої уваги заслуговує процес всмоктування, від якого залежать час настання і ступінь інтенсивності реалізації фармакологічного ефекту лікарського засобу.

У зв'язку з цим метою даної роботи було порівняльне дослідження початкового етапу фармакокінетики — абсорбції потенційного церебропротектора — нової координаційної сполуки германію з оксіетилдендифосфоновою кислотою і пірацетамом (ВІТІН-1) [10] у щурів у нормі і за умов гострої ішемії головного мозку.

Матеріали та методи дослідження

Досліди виконані на білих статевозрілих нелінійних щурах, масою тіла 200–230 г відповідно до рекомендацій Державного фармакологічного центру (ДФЦ) МОЗ України [5] в лабораторії кафедри фармакології ЛДМУ, що сертифікована ДФЦ для проведення доклінічних досліджень потенційних ліків (свідоцтво № 03 від 25.12.2008 р.). Експериментальною моделлю слугував гострий патологічний процес, що розвивається у щурів унаслідок незворотної одномоментної двобічної оклюзії загальних сонних артерій шовковою лігатурою до місця їх біfurкації на зовнішню і внутрішню гілки. Оперативне втручання проводили під натрій-тіопенталовим (50 мг/кг) наркозом згідно з існуючими нормами біоетики.

Тварини були розподілені на дві групи. Перша група — контрольна, представлена щурами без патології. Тварини другої групи — дослідної зазнали ішемічного ураження головного мозку. Тваринам як контрольної, так і дослідної груп ВІТІН-1 вводили внутрішньоочеревинно одноразово в дозі 114,9 мг/кг у вигляді 1 % водного розчину. Щурам дослідної групи координаційну сполуку, що вивчається, вводили згідно з розробленим нами раніше оптимальним режимом дозування — через 20,43 хв після оклюзії сонних артерій.

Визначення концентрації германію проводили за екстракційно-фотометричним методом ідентифікації мікрокількостей германію у тканинах експериментальних тварин [8]. Вивчення параметрів фармакокінетики на етапі всмоктування проводили у сироватці крові в динаміці: через 0,5; 2; 4; 8; 12 та 24 год після введення ВІТІН-1.

Фармакокінетичні показники, що характеризують процес абсорбції ВІТІН-1, обчислювали за допомогою спеціально розробленої на кафедрі фармакології ЛугДМУ комп’ютерної програми [6] в рамках двочасткової моделі зі всмоктуванням відповідно до методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [4]. Були розраховані такі параметри: константа швидкості абсорбції (K_{01}), період напівабсорбції ($t_{1/2,a}$), максимальна концентрація (C_{max}), час досягнення максимальної концентрації (t_{max}).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням t -критерію Стьюдента [3].

Результати дослідження та їх обговорення

Отримані в експерименті дані слугували методичною основою, на підставі якої були побудовані криві, представлені на рис. 1, і характеризують процес всмоктування сполуки ВІТІН-1 у системний кровообіг щурів контрольної серії та тварин з ішемічним інсультом.

Порівняльний аналіз наведених фармакокінетичних кривих потенційного церебропротектора дає можливість дійти висновку, що в дослідній групі процес всмоктування відбувається суттєво швидше, ніж у групі контрольних щурів, про що свідчать різні кути «підйому» кінетичних кривих концентрації сполуки у сироватці крові.

У результаті проведених досліджень шляхом комп'ютерної інтерполяції отриманих в експерименті даних на математичні залежності, які характеризують кінетику майбутнього лікарського засобу, встановлено, що шукана залежність, яка описує концентрацію сполуки в сироватці крові від часу її визначення, може бути виражена такими формулами:

$$C(t) = 0,0001 \cdot e^{-0,0088t} + 0,01089$$

$e^{-0,00164t}$ — у контрольних тварин;

$$C(t) = 155,829 \cdot e^{-0,00671t} + 0,02769 \cdot e^{-0,00207t}$$

— у дослідних тварин.

П р и м і т к а: $C(t)$ — функція залежності концентрації препарату в сироватці крові від часу дослідження; e — основа натурального логарифма; t — час дослідження.

Отримані залежності концентрацій ВІТІН-1 від експозиції як в контрольній серії, так і за умов церебральної ішемії однозначно свідчать про двочасткову модель дослідження, оскільки представлені сумою двох експотенційних функцій.

У подальшому на основі отриманих в експерименті концентрацій були розраховані основні фармакокінетичні параметри, що характеризують процес абсорбції ВІТІН-1 у щурів у нормі та з ішемією головного мозку, які наведені у таблиці.

Фармакокінетичні параметри, що характеризують процес абсорбції ВІТІН-1 в нормі та при гострому ішемічному інсульті головного мозку (n=7)

Параметр	Позначення, розмірність	Група тварин		P
		контроль	дослід	
Константа швидкості абсорбції	K_{01} , год ⁻¹	$0,65 \pm 0,05$	$1,69 \pm 0,13$	<0,001
Період напівабсорбції	$t_{1/2a}$, год	$1,06 \pm 0,09$	$0,42 \pm 0,04$	<0,001
Час досягнення максимальної концентрації	t_{max} , год	$3,4 \pm 0,27$	$3,1 \pm 0,31$	>0,05
Максимальна концентрація	C_{max} , мг/л	$116,703 \pm 11,421$	$191,714 \pm 18,324$	<0,01

П р и м і т к а: Р — порівняно з групою контрольних тварин.

Характеризуючи етап всмоктування ВІТІН-1 у щурів контрольної та дослідної груп, слід звернути увагу на константу швидкості абсорбції, яка характеризує швидкість надходження сполуки, що вивчається, з місця введення у системний кровообіг. З даних, наведених у таблиці, можна зробити висновок, що ВІТІН-1 при його внутрішньоочеревинному введенні щурам контрольної групи відносно швидко надходить до системного кровообігу і K_{01} становить лише $0,65$ год⁻¹. Це пов'язано, як ми вважаємо, з фізико-хімічними особливостями ВІТІН-1, які і зумовлюють ступінь та швидкість його проникнення крізь капіляри очеревини.

Якщо проводити порівняльний аналіз процесу всмоктування РІТІН-1 контрольної серії тварин та щурів з гострим ішемічним ураженням головного мозку, можна зробити висновок, що процес абсорбції германійорганічної сполуки в дослідній групі відбувається набагато швидше, про що свідчить константа швидкості абсорбції, яка збільшується в 2,6 разу ($1,69$ год⁻¹).

Тісно пов'язаний з K_{01} зворотнопропорційною залежністю період напівабсорбції, що характеризує час, необхідний для надходження половини введеної дози в системний кровообіг. Так, у контрольній групі щурів K_{01} становить 1,06 год, а в дослідній групі зменшується в 2,5 разу і становить 0,42 год. Усі ці зміни в

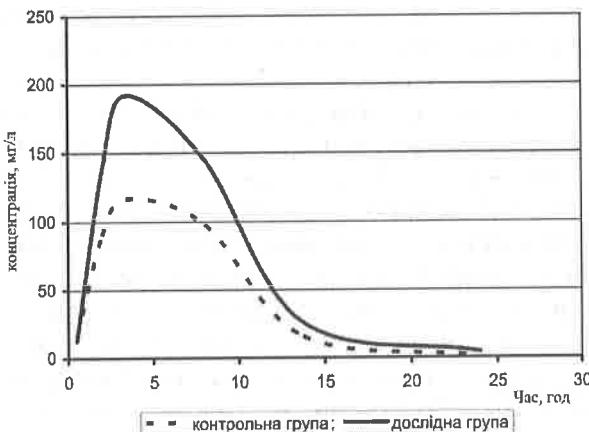


Рис. 1. Фармакокінетика ВІТІН-1 у сироватці крові щурів в нормі і в умовах гострого ішемічного інсульту

кінетиці дослідної групи у бік підсилення процесу абсорбції сприяють швидкій реалізації головної мети в лікуванні ішемічного ураження головного мозку – церебропротекторного ефекту.

Додаткова інформація щодо інтенсивності розвитку церебропротекторного ефекту отримана при визначенні максимальної концентрації ВІТІН-1 у сироватці крові. У групі контрольних тварин C_{max} має досить високу величину (116,703 мг/мл) і досягається вже приблизно через 3 год з моменту надходження потенційного лікарського засобу в організм, що дає можливість судити про велими низький латентний період розвитку церебропротекторного ефекту. У дослідній же групі тварин концентрація препарату в сироватці крові в 1,6 разу більше (197,714 мг/л), при цьому час її досягнення практично не змінюється порівняно з групою контрольних щурів і становить також близько 3 год. Іншими словами, германійорганічна сполука в умовах експерименту, що вивчається, досить швидко всмоктується у системний кровообіг, що зумовлює швидкий розвиток фармакологічного ефекту.

При введенні в організм лікарських засобів вони мають проникнути крізь численні біологічні мембрани перш ніж реалізувати терапевтичну дію. Принцип проникнення лікарських речовин крізь них здійснюється за допомогою таких механізмів: активного транспорту, пасивної дифузії, полегшеної дифузії, фільтрації, піноцитозу [9]. На нашу думку, ВІТІН-1 проникає крізь біологічні мембрани за допомогою механізму пасивної дифузії шляхом розчинення в ліпідах біологічних мембран, що, як відомо, відбувається без витрат енергії. Це пов'язано з відносно великою молекулою та молекулярною масою ВІТІН-1 (452,6 г/моль), а також внаслідок того, що до його складу входить слабка органічна кислота і пірацетам.

Таким чином, аналіз експериментальних даних, які характеризують перший етап фармакокінетики ВІТІН-1 – процес абсорбції, дає можливість дійти висновку, що в умовах гострої ішемії головного мозку прискорюється процес всмоктування ВІТІН-1 у кров, що зумовлює швидку реалізацію церебропротекторного ефекту. Все це дає нам можливість розширити існуючу уявлення про дію потенційного церебропротектора і надалі довести необхідність їх урахування щодо оптимізації режиму дозування при проведенні раціональної фармакотерапії церебрального інсульту зновсинтезованою германійорганічною сполукою.

1. Відаєвська А.Г. // Одеський мед. журн. – 2001. – № 3(65). – С.30–33.
2. Винницук С.М., Черненко Т.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения. – К.: Комполис, 2003. – 120 с.
3. Гланц Стентон. Медико-биологическая статистика / Пер с англ. Ю.А.Данилова, под ред. Н.Е.Бузикашвили, Д.В.Самойлова. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
4. Головенко Н.Я., Лук'янчук В.Д., Жук О.В., Зиньковский В.Г., Кравець Д.С., Жук М.С. Методические рекомендации по компьютерным расчетам фармакокинетических параметров лекарственных средств (линейные частевые модели). – Киев: Государственный научно-экспертный центр лекарственных средств, 1999. – 70 с.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України А.В.Степанова. – К., 2002. – 567 с.
6. Кравець Д.С. // Укр. мед. альманах. – 2000.– Т. 1, № 2.– С. 90–91.
7. Кресюн В.И. // Досягнення біології та медицини. – 2003. – №1. – С. 38–44.
8. Кресюн В.Й., Відаєвська А.Г, Шемонаєва К.Ф. // Одеський мед. журн. – 2000.– № 6(62). – С. 7–11.
9. Лук'янчук В.Д., Кравець Д.С. Введення до загальної фармакокінетики. – Луганськ: ВАТ «ЛОД», 2004. – 108 с.
10. Лук'янчук В.Д., Крилова Е.В., Сейфуллина И.Й. и др. // Журн. экстремальной медицины им. Г.О. Можаєва. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 123–126.
11. Полищук Н.В., Гуляев Д.В. // Doctor. – 2003. – №3. – С. 7–9.

Надійшла до редакції 06.07.2009.

E.V.Krylova

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА НОВОГО ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА ВИТИН-1 НА ЭТАПЕ АБСОРБЦИИ В НОРМЕ И ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Ключевые слова: фармакокинетика, координационное соединение германия, ВИТИН-1, ишемический инсульт

В данной работе представлены результаты фармакокинетических исследований координационного соединения германия с оксиэтилиден-дифосфоновой кислотой и пирацетамом (ВИТИН-1) у контрольных и опытных крыс. Экспериментально установлено, что в условиях острого ишемического инсульта головного мозга происходит существенная модификация фармакокинетики германийорганического соединения в сторону ускорения процесса абсорбции в центральный кровоток, о чем свидетельствуют следующие параметры: константа скорости абсорбции и период полуабсорбции.

E.V.Krilova

COMPARATIVE PHARMAKOKINETICS OF NEW POTENTIAL CEREBROPROTEKTOR VITIN-1 ON THE STAGE OF ABSORPTION IN NORM AND AT CEREBRAL ISCHEMIA

Key words: pharmacokinetics, coordination compound of germanium, VITIN-1, ischemic stroke

SUMMARY

In the present work results of the pharmakokinetic researches of complex compound of germanium with oxyethylidendifosphonic acid and pyracetamum (VITIN-1) in control and experimental rats. It is experimentally established that in conditions of ischemic stroke of cerebrum there is substantial modification of germaniumorganic compound's pharmakokinetics parameters toward the acceleration of absorption process in a central blood flow, what the followings parameters testify to: constant of speed of absorption and period of semiabsorption.

УДК 615.012.1:547.789.1

Л.М.МОСУЛА, асистент, Б.С.ЗІМЕНКОВСЬКИЙ, д-р фармац. наук, проф.,
В.В.ОГУРЦОВ, канд. фармац. наук, доц., Д.Я.ГАВРИЛЮК, канд. фармац. наук,
асистент, І.В.ДРАПАК, канд. фармац. наук, асистент, Р.Б.ЛЕСИК, д-р фармац.
наук, проф.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського,
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ ТА QSAR-АНАЛІЗ ПОХІДНИХ РОДАНІНУ З БЕНЗТІАЗОЛЬНИМ ФРАГМЕНТОМ У МОЛЕКУЛАХ

Ключові слова: 2-тіоксо-4-тіазолідони, протипухлинна активність, молекулярні дескриптори, QSAR-аналіз

Гетерилзаміщені тіазолідони як перспективна група протипухлинних агентів є об'єктами поглиблених досліджень у сучасній фармацевтичній хімії. На молекулярному рівні антионкотичні властивості тіазолідонів і споріднених гетероциклів пов'язують з афінітетом до ряду протиракових біомішеней, серед яких ензим JSP-1 [11], фактор ракового некрозу TNF α [4], біокомплекс Bcl-X $_L$ -BH3 [5] тощо. Крім

того встановлено, що 3-заміщені похідні 5-ариліден-2-тіоксо-4-тіазолідону інгібують протеїн-тироzin фосфатази трьох типів, а також пригнічують ріст пухлинних клітин ліній Н460 та РСЗ [13]. Зазначені сполуки запатентовані як потенційні засоби для лікування та профілактики раку, запальних процесів, автоімунних станів та інших порушень, що супроводжуються дисрегуляцією клітинного поділу і пов'язані з активністю ферментів протеїн-тироzin фосфатаз типів РТРН12 та РТРН2. Останнім часом підвищується інтерес науковців до гетероциклів з бензтіазольним фрагментом. Так, ідентифіковано сполуку МКТ 077, яка є зареєстрованим протираковим агентом [10]. Дослідження інших гетерилзаміщених бензтіазолів також дали змогу виділити ряд перспективних похідних [9, 14, 16].

Враховуючи наведене, метою наших досліджень було вивчення протипухлинної активності 5-заміщених 2-тіоксо-4-тіазолідонів (роданінів) та їх 3-бензтіазоліламінопохідних, розрахунок електронно-просторової структури зазначених сполук, а також встановлення кількісних параметрів кореляції «структура – протипухлинна активність».

Результати дослідження та їх обговорення

Для реалізації запланованого дослідження одержано 12 похідних 5-іліден-2-тіоксо-4-тіазолідону та їх 3-бензтіазоліламінозаміщених [1].

Структура гетероциклічних похідних, обраних об'єктами дослідження

	1. $R^1 = 2\text{-NH}_2\text{COCH}_2\text{O}$, $R^2 = 5\text{-Cl}$ 2. $R^1 = 2\text{-}(\text{4-MeOC}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{O}$, $R^2 = 5\text{-Cl}$
	3. $R^1 = 4\text{-NEt}_2$, $R^2 = \text{H}$ 4. $R^1 = 3\text{-OMe}$, $R^2 = 4\text{-OH}$ 5. $R^1 = 3\text{-OMe}$, $R^2 = 4\text{-}(\text{4-MeOC}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{O}$ 6. $R^1 = 2\text{-}(\text{4-OMe-C}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{O}$, $R^2 = 5\text{-Cl}$ 7. $R^1 = 2\text{-}(\text{4-EtOCO-C}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{O}$, $R^2 = 5\text{-Cl}$ 8. $R^1 = 2\text{-}(\text{4-NH}_2\text{SO}_2\text{-C}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{O}$, $R^2 = 5\text{-Cl}$ 9. $R^1 = 2\text{-}(\text{2-Me-C}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{O}$, $R^2 = 5\text{-Br}$
	10. $R^3 = \text{H}$ 11. $R^3 = \text{Me}$ 12. $R^3 = \text{Br}$

Протипухлинну активність синтезованих сполук вивчали в Національному інституті раку (США) на 60 лініях клітин, що охоплюють 9 основних груп раку: лейкемію, меланому, рак легень, нирок, яєчника, ЦНС, товстого кишечнику, простати та молочної залози. Як кількісну характеристику використано параметр GP%, що характеризує відсоток пригнічення росту ракових клітин (величина GP% від 100 до 0 %) або їх загибелі (величина GP% від 0 % до –100 %) при дії досліджуваної речовини в концентрації 10–5 моль/л [3, 4, 7].

Слід відмітити, що похідні 3-(бензтіазол-2-іламіно)-2-тіоксо-4-тіазолідону виявляють помірну протипухлинну активність з високою селективністю дії на певні лінії ракових клітин. Так, сполука 4 виявила цитостатичний ефект на лінію раку нирок RXF 393 ($\text{GP} = -0,71\%$), а сполука 9 – на лінію НОР-92 (недрібно-клітинний рак легень, $\text{GP} = 0,74\%$). Цікаво, що введення ацетамідних залишків в ариліденовий фрагмент (особливо в *o*- положення) має суттєвий вплив на прояв протипухлинної активності, про що свідчать результати дії сполук 6 та 7 (табл. 1). Так,

сполука **7** виявилась ефективною щодо ліній лейкемії RPMI-8226 (GP = 20,02 %), MOLT-4 (GP = 36,83 %) та SR (GP = 38,52 %). Найвищу протипухлинну активність виявила сполука **6**, результати ґрутового скринінгу *in vitro* якої стали підставою для патентування [2] і поглиблених доклінічних досліджень *in vivo*. Крім того, варти уваги результати протипухлинної активності сполуки **12** на такі лінії: IGROV1 (рак яєчників, GP = 4,59 %), RXF 393 (рак нирок, GP = 25,00 %) та SK-MEL-2 (меланома, GP = 25,27 %). На нашу думку, введення атома брому в ізатиніліденовий фрагмент (**12**) сприяє появі активності, оскільки сполуки із залишками ізатину (**10**) чи 5-метилізатину (**11**) не виявили такої дії.

Для кількісного *in silico* дослідження кореляції «структура — протипухлинна активність» вибрано лінії лейкемії (SR, HL-60(TB), MOLT-4), недрібноклітинного раку легень (NCI-H226), меланоми (LOX IMVI, M14) та раку кишечнику (HCT-116), оскільки до них виявили високу селективність наведені вище похідні роданіну (табл. 1).

Таблиця 1

Мітотична активність (GP%) клітинних ліній на фоні досліджуваних сполук

Сполука	Середня мітотична активність	Шифр ліній рапкових клітин						
		SR	HL-60(TB)	MOLT-4	NCI-H226	LOX IMVI	M14	HCT-116
1	105,63	126,81	148,60	110,52	94,08	103,54	92,99	96,35
2	104,03	64,21	64,02	65,36	111,84	118,48	105,35	104,60
3	98,52	86,74	118,40	100,77	94,88	93,64	100,86	102,88
4	97,65	119,58	114,25	124,27	85,37	83,44	85,49	86,52
5	107,49	84,13	106,51	105,08	130,46	116,06	105,89	96,33
6	50,36	-71,48	-7,40	-9,34	-18,13	-9,07	-16,81	-42,43
7	74,74	38,52	86,30	36,83	88,67	72,25	79,04	61,97
8	107,21	63,83	89,68	98,69	113,36	94,80	107,00	98,30
9	100,36	107,71	100,05	90,71	90,70	95,66	102,64	99,17
10	96,88	139,01	87,78	111,44	69,04	93,49	91,30	88,55
11	102,6	102,78	89,56	117,07	96,81	93,46	93,99	99,48
12	96,42	119,93	129,06	131,77	84,05	89,55	94,00	87,05

Попередню оптимізацію молекул досліджуваних сполук проводили з використанням програми «HyperChem 7.5» [8] методом молекулярної механіки MM+ до досягнення RMS градієнта менше ніж 0,1 ккал/(моль· \AA). Остаточну мінімізацію енергії досліджуваних структур здійснювали напівемпіричним квантово-хімічним методом AM1 до досягнення RMS градієнта менше ніж 0,01 ккал/(моль· \AA).

Підготовлені структури були використані для розрахунку молекулярних дескрипторів із застосуванням програми «DRAGON» [6], яка дає можливість одержати 1666 структурних, 2D та 3D дескрипторів. На основі обчислених дескрипторів та величин протипухлинної активності досліджуваних сполук вивчали залежність «структура — активність». Для цього здійснювали побудову математичних одно-або багатопараметричних QSAR-моделей за допомогою програми «BuildQSAR» [12]. Статистично кількість досліджуваних сполук (N) та незалежних змінних (M), що використовуються у моделі, має відповідати співвідношенню $N/M \geq 5$. Тому всі відіbrane для аналізу рівняння містили не більше двох незалежних змінних.

Якість одержаних моделей оцінювали за величинами коефіцієнта кореляції (r), стандартного відхилення (s) та коефіцієнта Фішера (F). Прогнозуючу здатність моделей визначали методом крос-валідації (LOO) за величинами коефіцієнта крос-валідації (Q^2) та суми квадратів похибки прогнозування (SPRESS).

Аналіз одержаних одно- та двопараметричних QSAR-моделей (табл. 2) свідчить, що з великого масиву дескрипторів, згенерованих програмою «DRAGON», найкращими є 3D-дескриптори (RDF, 3D-MoRSE та GETAWAY) (табл. 2), величини яких залежать від просторової будови молекули [15].

Таблиця 2

Одно- та двопараметричні QSAR-моделі: $GP\% = a + b \cdot X_1 + c \cdot X_2$

Модель	GP%	a	b	X_1	c	X_2	г	s	F	Q^2	S_{PRESS}
1	SR	160,0	-6,62	RDF085m	—	—	0,794	36,1	17,0	0,352	47,8
2	SR	136,1	-17,7	RDF130e	26,5	RDF140p	0,917	24,9	23,9	0,417	47,8
3	HL-60	135,3	-3,51	RDF085m	—	—	0,612	32,4	5,97	0,053	41,9
4	HL-60	125,2	-13,4	RDF130e	22,8	RDF140p	0,932	15,6	29,7	0,738	22,1
5	MOLT-4	145,5	-108,7	H7e	—	—	0,801	25,6	17,9	0,417	32,6
6	MOLT-4	-118,4	-417,2	H8v	757,0	R8p	0,913	18,4	22,6	0,618	27,8
7	NCI-H226	116,7	-156,1	H8p	—	—	0,611	30,4	5,95	0,483	46,8
8	NCI-H226	53,4	-466,6	H7v	6,02	RDF155e	0,839	22,1	10,7	0,117	38,0
9	LOX IMVI	117,8	-226,1	H8v	—	—	0,729	23,6	11,3	0,204	37,7
10	LOX IMVI	60,6	-322,1	H7v	-49,0	Mor14m	0,884	16,9	16,1	0,326	29,7
11	M14	116,0	-221,5	H8v	—	—	0,695	25,3	9,36	0,471	42,8
12	M14	65,1	-341,2	H8v	-37,2	Mor14m	0,833	20,5	10,2	0,221	41,1
13	HCT-116	120,8	-289,7	H8v	—	—	0,753	28,0	13,1	0,225	47,2
14	HCT-116	153,1	-243,0	H7p	151,2	Mor28m	0,879	21,4	15,3	0,229	39,4

RDF (Radial Distribution Function)-дескриптори базуються на розподілі міжатомних відстаней у молекулі [15]. Функція радіального розподілу групи з n атомів може бути інтерпретована як ймовірність перебування атома у сферичному об'ємі з радіусом R . Зазвичай RDF-дескриптор позначають як $RDFsw$, де s приймає значення $10 \leq s \leq 155$ з кроком 5, а $w = \{u, m, v, e, p\}$, причому u — незважений дескриптор, m — дескриптор зважений за масою, v — зважений за Ван-дер-Ваальсовим об'ємом, e — зважений за електронегативністю, p — зважений за здатністю до поляризації (m, v, e та p зважуються за відповідним параметром для атома Карбону). Розрахунок проводять за рівнянням

$$RDF(R, w) = f \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n w_i w_j e^{-\beta(R-r_{ij})^2},$$

де: f — фактор шкалювання;

r_{ij} — евклідова відстань між атомами i та j ;

w_i і w_j — маса атомів i та j ;

n — загальна кількість атомів;

β — згладжувальний параметр, який визначає ймовірний розподіл індивідуальних міжатомних відстаней і може бути інтерпретований як температурний фактор, що характеризує рух атомів.

3D-MoRSE- дескриптори (3D Molecule Representation of Structures based on Electron diffraction) розраховують з моделі ІЧ-спектра з використанням загальної функції розсіювання електронів [15]. Зазвичай MoRSE-дескриптор позначають як $Morsw$, де s приймає значення $1 \leq s \leq 32$, а $w = \{u, m, v, e, p\}$. Розрахунок проводять за рівнянням

$$Mor(s, w) = \sum_{i=2}^n \sum_{j=1}^{i-1} w_i w_j \frac{\sin(sr_{ij})}{sr_{ij}},$$

де: n — кількість атомів;

r_{ij} — евклідова відстань між атомами i та j ;

w_i і w_j — маса атомів i та j ;

s — величина кута розсіювання.

GETAWAY-дескриптори (GEometry, Topology, and Atom-Weights Assembly) — це молекулярні дескриптори, які одержують з представлення молекулярної структури у вигляді матриці молекулярного впливу (MMB), що позначають H і розраховують таким чином [15]:

$$H = M \cdot (M^T \cdot M) - 1 \cdot M^T,$$

де: M – молекулярна матриця, одержана центруванням декартових координат x, y, z атомів (включаючи атоми Гідрогену) молекули у вибраній конформації, а індекс T позначає транспоновану матрицю.

Програма «DRAGON» обчислює чотири типи GETAWAY-дескрипторів: $HATSkw$, Hkw , Rkw та Rkw^+ , де $1 \leq k \leq 8$, і $w_i \in \{u, m, v, e, p\}$, де $w_i = 1$ для всіх атомів i .

Розрахунок Hkw дескрипторів проводять за рівнянням

$$Hkw = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n (h_{ij} \cdot w_i \cdot w_j) \cdot \delta(k; d_{ij}; h_{ij}),$$

де: $\delta(k; d_{ij}; h_{ij}) = 1$, якщо $d_{ij} = k$ (у M -матриці) та $h_{ij} > 0$ (у H -матриці), і нуль в усіх інших випадках.

Дескриптори Rkw . R -матриця «вплив/відстань» задається таким чином. Діагональні елементи $R(ii) = 0$ для кожного значення i . для $i \neq j$, де r_{ij} – геометрична відстань між атомами i та j .

Дескриптори Rkw обчислюють за рівнянням

$$Rkw = \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j>1}^n ((\sqrt{h_u \cdot h_{jj}}) / r_{ij}) \cdot w_i \cdot w_j \cdot \delta(k; d_{ij}),$$

де: $\delta(k; d_{ij}) = 1$, якщо $d_{ij} = k$ (у M -матриці), і нуль в усіх інших випадках.

Однопараметричні моделі 1 та 3, які описують вплив будови досліджуваних сполук на ріст клітин ліній SR та HL-60 (лейкемія) і містять RDF085m дескриптор, характеризуються задовільною адекватністю ($r(1) = 0,794$, $F(1) = 17,0$; $r(3) = 0,612$, $F(3) = 5,97$), проте їх прогнозуюча здатність є недостатньою. При переході до двопараметричних рівнянь 2 та 4 суттєво зростає статистична якість моделей ($r(2) = 0,917$, $F(2) = 23,9$; $r(4) = 0,932$, $F(4) = 29,7$) та їх прогнозуюча здатність ($Q^2(2) = 0,417$, $Q^2(4) = 0,738$).

Моделі 1–4 містять RDF-дескриптори, зважені за масою (RDF085m), електронегативністю (RDF130e) та здатністю до поляризації (RDF140p). У цих моделях до підвищення протиракової активності приводить збільшення дескрипторів, зважених за масою та електронегативністю, і зменшення зваженого за здатністю до поляризації дескриптора RDF140p. Важливим є те, що позитивний вплив мають дескриптори, яким відповідає радіус від 8,5 до 13,0 Å. враховуючи, що RDF-дескриптори інтерпретуються, як розподіл ймовірностей перебування атомів у сферичному об'ємі радіусом R , можна зробити висновок, що згідно з одержаними моделями молекулярний об'єм активних речовин обмежується радіусом 13,0 Å і введення масивних замісників є небажаним.

Таблиця 3

Величини дескрипторів, що були використані при побудові математичних моделей

Сполука	H7e	H7v	H7p	H8v	H8p	R8p	Mor14m	Mor28m	RDF085m	RDF130e	RDF155e	RDF140p
1	0,200	0,046	0,080	0,036	0,041	0,313	-1,193	-0,156	6,773	0,000	0,000	0,000
2	0,333	0,064	0,096	0,013	0,017	0,260	-1,752	-0,104	12,624	9,421	2,759	2,230
3	0,416	0,131	0,178	0,085	0,130	0,325	-1,244	-0,134	8,544	6,977	3,226	4,289
4	0,240	0,074	0,108	0,061	0,087	0,372	-1,631	-0,310	5,679	4,263	0,005	1,541
5	0,612	0,231	0,278	0,202	0,246	0,359	-2,151	-0,079	17,149	10,082	7,857	5,149
6	1,022	0,469	0,588	0,380	0,511	0,383	-2,062	-0,104	22,693	14,229	7,018	3,022
7	1,007	0,347	0,465	0,183	0,253	0,319	-2,421	-0,074	19,961	24,351	16,595	12,274
8	0,619	0,247	0,336	0,129	0,187	0,338	-2,152	0,059	18,734	20,923	12,835	10,799
9	0,811	0,326	0,425	0,243	0,326	0,402	-2,912	0,348	15,726	6,480	6,659	3,513
10	0,280	0,115	0,177	0,045	0,075	0,358	-1,326	-0,050	4,527	2,311	0,001	0,723
11	0,281	0,098	0,156	0,084	0,119	0,358	-1,367	-0,055	4,558	4,337	0,001	1,307
12	0,277	0,164	0,234	0,167	0,307	0,418	-1,461	-0,004	4,681	1,707	0,000	0,708

Одно- та двопараметричні моделі 5–14 описують вплив будови досліджуваних сполук на ріст клітин ліній MOLT-4 (лейкемія), NCI-H226 (рак легень), LOX IMVI та M14 (меланома) і HCT-116 (рак товстого кишечнику). Ці моделі містять GETAWAY-дескриптори (H7e, H7v, H8v, H7p, H8p та R8p) та 3D-MoRSE-дескриптори (Mor14m, Mor28m) і є достатньо адекватними: для однопараметричних моделей $0,611 < r < 0,801$ і $5,95 < F < 17,9$, а для двопараметричних – $0,833 < r < 0,913$ і $10,2 < F < 22,6$. Проте лише модель 6 має хорошу прогнозуючу здатність ($Q^2 = 0,618$), для решти моделей – $Q^2 < 0,5$.

Аналіз моделей 5–7 та 9–12 свідчить, що збільшення протиракової активності спостерігається при зростанні величин GETAWAY- та 3D-MoRSE-дескрипторів, зважених за електронегативністю, Ван-дер-Ваальсовим об'ємом та здатністю до поляризації. Для двопараметричних моделей 8 та 14 при збільшенні величин GETAWAY-дескрипторів величини RDF155e та Mor28m мають зменшуватися. Проте для всіх моделей визначальними змінними є GETAWAY-дескриптори. У формулі для розрахунку величин GETAWAY-дескрипторів діагональні елементи h_{ij} , так звані важелі, що кодують інформацію про атоми, характеризують «вплив» кожного атома при визначенні форми молекули в цілому. Поверхневі атоми мають більшу величину h_{ij} , ніж атоми біля центру молекули, а величина максимального впливу в молекулі залежить безпосередньо від розміру та форми молекули. Тому величини GETAWAY-дескрипторів суттєво залежать від розгалуженості та конформаційних змін молекули. Враховуючи наведене, одержані нами QSAR-моделі свідчать про те, що зростання протиракової активності досліджуваних сполук відбувається із збільшенням ступеня розгалуженості їх молекул, тобто здатності утворювати конформери. Крім того, модель 8, як і моделі 1–4, накладає певні обмеження на об'єм активної сполуки.

Висновки

- На основі вивчення протипухлинної активності похідних роданіну з бензтіазольним фрагментом ідентифіковано «сполуку-лідер» 2-[2-[3-(бензтіазол-2-іlamіно)-4-оксо-2-тіоксotіазолідин-5-іліденметил]-4-хлорfenокс]-N-(4-метоксифеніл)-ацетамід (6) з високими показниками інгібування пухлинного росту без вираженої селективності дії, яку відібрано для поглиблена дослідження протипухлинної активності *in vivo*.

- На основі QSAR-аналізу (BuildQSAR) протипухлинного ефекту похідних роданіну встановлено, що найкращими для раціонального дизайну протиракових агентів є одно- та двопараметричні моделі залежності «структура – дія», які в якості незалежних змінних містять 3D-дескриптори (RDF, 3D-MoRSE та GETAWAY).

- Показано, що найбільш суттєвий вплив на протиракову активність 3-бензтіазолзаміщених похідних роданіну має розмір молекули та її розгалуженість. Одержані результати *in silico* дослідження можуть бути теоретичною платформою для синтезу *de novo* потенційних «лікоподібних» молекул з групи бензтіазолзаміщених 2-тіоксо-4-тіазолідонів.

- Мосула Л.М., Лесик Р.Б. // Фармац. журн. – 2008. – № 1. – С. 56–61.
- Мосула Л.М., Зіменковський Б.С., Лесик Р.Б., Гаврилюк Д.Я. Патент на корисну модель №32670 // Заявл. 11.01.2008. Опубл. 26.05.2008. Бюл. № 10.
- Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A. et al. // Cancer Research. – 1988. – Vol. 48. – P. 589–601.
- Capter P.H., Scherle P.A., Muchelbauer J.A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 11879–11884.
- Degterev A., Lugovskoy A., Cardone M. et al. // Nature Cell Biology. – 2001. – № 3. – P. 173–182.
- DRAGON web version 3.0. QSAR software developed by Milano Chemometrics and QSAR Research Group, Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio Universita degli Studi di Milano – Bicocca.
- Grever M.R., Scheprt S.A., Chabner B.A. // Seminars in Oncology. – 1992. – Vol. 19, № 6. – P. 622–638.
- HyperChem 7.5 (HyperCube, Inc) / <http://www.hyper.com>

9. Kok S.H.L., Gambari R., Chui C.H. et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2008. – Vol. 16. – C. 3626–3631.
10. Masayuki Kawakami, Keizo Koya, Tochino Ukai et al. // J. of Medicinal Chemistry. – 2002. – Vol. 37. – P. 197–206.
11. Neil S. Cutshall, Christine O'Day, Marina Prerzhdo // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2005. – № 15. – P. 3374–3379.
12. de Olivera D.B., Gaudio A.C. // Quant. Struct. – Act. Relat. – 2000. – Vol. 19, № 6. – P. 599–601.
13. Pat. № WO 03/094916 A1 / Z. Zhang, Daynard T.S., Kalmar G.B. – 20 November 2003 (20.11. 2003). Canada A61K31/426; A61K31/427; A61P35/00; A61P29/00 № WO2003CA00682.
14. Shedd K., Rosania G.R. // Molecular Pharmaceutics. – 2004. – Vol. 1, №. 4. – P. 267–280.
15. Todeschini R., Consonni V. Handbook of Molecular Descriptors. – Wiley–VCH, Weinheim, Germany, 2000. – 668 p.
16. Yoshida M., Hayakawa I., Hayashi N. et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2005. – № 15. (Vol. 15.). – P. 3328–3332.

Надійшла до редакції 03.12.2009.

*Л.М.Мосула, Б.С.Зименковский, В.В.Огурцов, Д.Я.Гаврилюк,
И.В.Драпак, Р.Б.Лесык*

ПРОТИООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ И QSAR-АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ РОДАНИНА С БЕНЗТИАЗОЛЬНЫМ ФРАГМЕНТОМ В МОЛЕКУЛАХ

Ключевые слова: 2-тиоксо-4-тиазолидоны, противоопухолевая активность, молекулярные дескрипторы, QSAR-анализ

Установлено, что производные 2-тиоксо-4-тиазолидона с бензтиазольным фрагментом обладают умеренной противоопухолевой активностью с выраженной селективностью к отдельным линиям рака почек, яичников, меланомы и лейкемии. На основе QSAR-анализа (BuildQSAR) результатов фармакологического скрининга получены одно- и двопараметрические модели зависимости «структура — противоопухолевая активность», а также установлено, что активность исследуемых соединений зависит от размера молекулы и ее разветвленности. Полученные модели могут служить теоретической платформой для синтеза *de novo* потенциальных противоопухолевых соединений из группы производных 2-тиоксо-4-тиазолидона с бензтиазольным фрагментом в молекуле.

*L.M.Mosula, B.S.Zimenkovsky, V.V.Ogurcov, D.Ya.Havrylyuk,
I.V.Drapak, R.B.Lesyk*

ANTITUMOR ACTIVITY AND QSAR-ANALYSIS OF RHODANINE DERIVATIVES WITH BENZOTIAZOLE FRAGMENT IN MOLECULE

Key words: 2-thioxo-4-thiazolidone, antitumor activity, molecular descriptors, QSAR

S U M M A R Y

It is established, that 2-thioxo-4-thiazolidone derivatives with benzothiazole fragment in molecule possess moderate antineoplastic activity with the expressed selectivity to individual lines of leukemia, melanoma, breast and ovarian cancer. Based on the QSAR-analysis (BuildQSAR) of pharmacological screening results one- and two-parametric models of «structure — antitumor activity» correlation are received, which show that activity of tested compounds depends on the size of a molecule and their branching. The received models can serve as a theoretical platform for *de novo* synthesis of potential antitumor agents among 2-thioxo-4-thiazolidone derivatives with benzothiazole fragment in molecule.

О.М.ШАПОВАЛ, канд. біол. наук.

Національний фармацевтичний університет,
Центральна науково-дослідна лабораторія (ЦНДЛ)

ВИВЧЕННЯ ПЕРИФЕРИЧНОЇ АНАЛЬГЕТИЧНОЇ ДІЇ НОВОГО ПРЕПАРАТУ «АНАЛЬБЕН-РЕТАРД» ПОРІВНЯНО З СУЧASNIMI НЕСТЕРОЇДНИМИ ПРОТИЗАПАЛЬНИМИ ЗАСОБАМИ

Ключові слова: нестероїдні протизапальні засоби, анальгетична дія, анальбен-ретард, мелоксикам, целеококсиб, парацетамол

Постановка проблеми в загальному вигляді та її зв'язок з важливими науковими чи практичними завданнями

Зазначено, що близько 20 % дорослого населення та до 60–80 % осіб похилого віку обмежені в активному способі життя внаслідок болю, який супроводжує захворювання опорно-рухового апарату. Також більше ніж 70 % населення розвинутих країн світу скаржиться на гострий та хронічний головний біль [1–3]. Застосування для корекції наведених симптомів нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), особливо протягом тривалого часу, часто супроводжується розвитком таких побічних ефектів, як гастротоксичність, гепатотоксичність, нейротоксичність та інших. Це зумовлено тим, що в українських клініках широко застосовують традиційні НПЗЗ (парацетамол, анальгін, аспірин, вольтарен, піроксикам та ін.), які не позбавлені ушкоджувальної дії на організм людини [2, 4]. Призначення нових відносно нешкідливих селективних та специфічних інгібіторів циклооксигенази (ЦОГ)-2 – мелоксикаму, німесуліду, целебрексу, рофіококсибу та інших також супроводжується розвитком побічних ефектів: периферичних набряків, що пов’язані з впливом на клубочкову фільтрацію та з затримкою солей, гастроентерологічних ушкоджень, підвищеннем ризику серцево-судинних ускладнень. Ураховуючи вищевикладене, сучасні вчені продовжують пошук нових високоефективних та малотоксичних НПЗЗ та ненаркотичних аналгетиків (ННА) [8–15].

Аналіз останніх досліджень з публікацій, в яких започатковано розв’язання даної проблеми і на які спирається автор

Вченими НФаУ створено та фармакологічно широко вивчено новий вітчизняний високоефективний НПЗЗ – анальбен, який є малотоксичним, не має алергізуючого ефекту та поряд з характерними для НПЗЗ протизапальними, анальгетичними та жарознижувальними властивостями виявляє гепатопротекторну дію [8]. У клінічних умовах анальбен зарекомендував себе як ефективний та нешкідливий засіб у комплексному лікуванні запальних, дистрофічних та ревматичних захворювань опорно-рухового апарату [7]. Анальбен має високу біодоступність та швидко виводиться з організму ($T_{1/2} = 1,45$ год) [6], за рахунок чого препарат призначають по 4–5 вживань на добу, що значно знижувало комплаентність. Вищевикладене стало підґрунтям для розробки та створення вченими НФаУ пролонгованої лікарської форми препарату «Анальбен-ретард» [2], яка дає можливість знизити кратність вживання препарату до 1–2 разів на добу і сьогодні проходить доклінічне вивчення.

Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, яким присвячено дану статтю

У межах доклінічних досліджень та для визначення можливого механізму дії необхідно було провести дослідження з вивчення впливу нового НПЗЗ «Аналь-

бен-ретард» порівняно із сучасними представниками цієї групи на перебіг периферичної ноцицептивної реакції у лабораторних тварин.

Формулювання цілей статті (постановка завдання). Завданням цієї роботи стало вивчення тривалості впливу нового препарату «Анальбен-ретард» порівняно із сучасними НПЗЗ: мелоксикамом («Моваліс»), целекоксибом («Целебрекс») та парацетамолом («Панадол») на периферичну ноцицептивну систему на моделі оцтово-кислих корчів у мишей [4]. У механізмі розвитку цієї патології беруть участь кініни, біогенні аміни, простагландини (ПГ) та лейкотріени (ЛТ), які є ендогенними альгогенами та сприяють розвитку судомних скорочень черевних м'язів. Це супроводжується витягуванням задніх кінцівок та прогинанням спини [4]. Вивчення впливу препаратів на розвиток ноцицептивної реакції дає можливість визначити їх здатність інгібувати медіатори болю та розвиток болової реакції.

Виклад основного матеріалу дослідження з новим обґрунтуванням отриманих наукових результатів

Оцінку периферичної анальгетичної дії досліджуваних препаратів проводили на білих миших масою 18–20 г по 7 тварин у групі. Корчі викликали внутрішньо-очеревинним введенням 0,6 % розчину оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тварини через 1 год, 12 год та 24 год після внутрішньошлункового введення досліджуваних речовин. Досліджувані препарати вводили в умовнотерапевтичних дозах, які були розраховані з дози для людини на дозу для тварин з використанням методу Ю.П.Риболовлєва [4]. Анальбен-ретард вводили в дозі 1,3 мг/кг, мелоксикам – 1,3 мг/кг, целекоксиб – 17 мг/кг, парацетамол – 170 мг/кг. Контрольна група мишей отримувала еквівалентну кількість розчинника. Введення альгогену викликало розвиток корчів – судомних скорочень черевних м'язів мишей, які супроводжувалися витягуванням задніх кінцівок. За тваринами спостерігали протягом 20 хв і підраховували кількість корчів у кожній тварині.

Аналгетичну активність досліджуваних препаратів оцінювали за їх здатністю зменшувати кількість корчів у дослідній групі мишей порівняно з контрольною і виражали у відсотках. Результати експерименту наведені в таблицях 1 та 2.

За результатами експерименту встановлено, що новий препарат «Анальбен-ретард» у дозі 1,3 мг/кг виявляє анальгетичну активність через 1 год після введення на рівні $50\% - 49,88 \pm 2,79\%$, через 12 год анальгетичний ефект підвищується до $91,64 \pm 1,65\%$, а через 24 год становить $64,03 \pm 2,15\%$. У попередніх дослідженнях було встановлено, що ЕД₅₀ субстанції анальбену на периферичних моделях болю становить у середньому 1 мг/кг [7, 8]. Наведений результат свідчить про те, що введення до лікарської форми нового препарату речовин, які пролонгують ефект субстанції анальбену, підтримує вираженість периферичної анальгетичної дії на високому (понад 50 %) рівні протягом 24 год (таблиці 1, 2). Середньодобова активність анальбен-ретарду становить 68,5 % (табл. 2).

Препарат порівняння селективний інгібітор ЦОГ-2 – мелоксикам виявляє анальгетичні властивості на рівні 40 % протягом 24 год: через 1 годину після введення його анальгетична активність становить $38,95 \pm 5,12\%$, через 12 год – $49,41 \pm 7,97\%$, а через 24 год – $39,07 \pm 3,85\%$ (табл. 1). Специфічний інгібітор ЦОГ-2 целекоксиб виявляє дещо нижчу за мелоксикам та анальбен-ретард анальгетичну дію: через 1 год після введення його анальгетична активність становить $33,57 \pm 1,79\%$, через 12 год – $46,91 \pm 5,85\%$, а через 24 год – $27,47 \pm 1,31\%$ (табл. 1). Ненаркотичний анальгетик парацетамол сильніше за інгібітори ЦОГ-2 та слабше за анальбен-ретард пригнічує розвиток болової реакції: через 1 год після введення приблизно на $32,97 \pm 5,06\%$, через 12 год – на $69,97 \pm 5,09\%$, а через 24 год – на $44,50 \pm 1,35\%$ (табл. 1).

Порівняльний аналіз середньодобової анальгетичної активності анальбен-ретарду та препаратів порівняння свідчить (табл. 2.), що за вираженістю та за тривалістю впливу на розвиток периферичної ноцицептивної реакції новий препарат має вірогідну перевагу над усіма препаратами порівняння. Середньодобовий

Таблиця 1

Периферична анальгетична дія анальбен-ретарду та препаратів порівняння мелоксикаму, целекоксибу та парацетамолу в динаміці після одноразового введення тваринам

№ п/п	Умови досліду	Доза, мг/кг	Через 1 год після введення препаратів		Через 12 год після введення препаратів		Через 24 год після введення препаратів	
			кількість корчів, $x \pm S_x$	анальгетична активність, %	кількість корчів, $x \pm S_x$	анальгетична активність, %	кількість корчів, $x \pm S_x$	анальгетична активність, %
1	Контрольна група	—	82,80±3,44	—	76,60±4,86	—	101,75±3,69	—
2	Аналльбен-ретард	1,3	41,50±3,28*	49,88±2,79	6,40±1,30*	91,64±1,65	36,6±2,19*	64,03±2,15
3	Мелоксикам (Моваліс)	1,3	50,60±5,33*	38,95±5,12	38,75±6,09**/***	49,41±5,09**	62,00±3,91**/***	39,07±3,85**
4	Целекоксиб (Целебрекс)	17,0	55,00±1,87**/***	33,57±1,79**	40,67±4,48**/***	46,91±5,85**	73,80±14,2**/***	27,47±1,31**
5	Парацетамол (Панадол)	170,0	55,50±2,97**/***	32,97±5,06**	23,00±3,40**/***	69,97±5,09**	56,50±3,07**/***	44,50±1,35**

*Відхилення показника вірогідно відносно контрольної групи, Р≤ 0,05.

**Відхилення показника вірогідно відносно групи тварин, яким вводили анальбен-ретард, Р≤ 0,05.

Таблиця 2

Середньодобова анальгетична активність анальбен-ретарду та препаратів порівняння мелоксикаму, целекоксибу та парацетамолу

№ п/п	Умови досліду	Доза, мг/кг	Середньодобова анальгетична активність, %
1	Аналльбен-ретард	1,3	68,52±7,51
2	Мелоксикам (Моваліс)	1,3	42,48±2,13
3	Целекоксиб (Целебрекс)	17,0	35,98±3,52
4	Парацетамол (Панадол)	170,0	49,15±6,69

аналльгетичний ефект анальбен-ретарду виразніший за анальгетичну дію селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму в 1,6 разу, специфічного інгібітора ЦОГ-2 целекоксибу — в 1,9 разу та ННА парацетамолу — в 1,4 разу (табл. 2).

Але якщо звернути увагу на значення доз препаратів, які необхідні для досягнення значущого анальгетичного ефекту, ця перевага буде значно більшою. Так, наприклад, через одну годину після введення (табл. 1) дози парацетамолу та целекоксибу, що сприяють розвитку анальгетичної активності на рівні 30%, дорівнюють 170 мг/кг та 17 мг/кг відповідно, доза анальбен-ретарду, введення якої викликає анальгетичний ефект на рівні 50 %, — 1,3 мг/кг. Таким чином, результати свідчать про перевагу за анальгетичною дією анальбен-ретарду над парацетамолом у 131 раз, а над целекоксибом — у 13,1 разу при порівнянні доз, що вивчаються.

Відомо, що внутрішньоочеревинне введення оцтової кислоти викликає периферичне бальзове подразнення, у процесі якого здійснюється утворення та вивільнення медіаторів болю серотоніну, гістаміну, брадікініну, ПГ та ЛТ [4]. Зважаючи на отримані результати, можна стверджувати, що новий препарат пролонгованої дії — анальбен-ретард сильніше за препарати порівняння пригнічує розвиток периферичної бальзової реакції, яка викликана вищезазначеними медіаторами, або має інший, не пов’язаний із впливом на ці ендогенні речовини, механізм дії. Останній тезис потребує експериментального підтвердження в подальших дослідженнях.

Висновки

- Новий препарат пролонгованої дії «Аналльбен-ретард» у дозі 1,3 мг/кг сприяє тривалості анальгетичного ефекту на високому (понад 50 %) рівні протягом 24 год.
- За вираженістю середньодобового анальгетичного ефекту анальбен-ретард має перевагу над середньодобовою анальгетичною дією селективного інгібітора

ЦОГ-2 мелоксикаму — в 1,6 разу, специфічного інгібітора ЦОГ-2 целекоксибу — в 1,9 разу та ННА парацетамолу — в 1,4 разу.

3. При порівнянні ефективних доз досліджуваних об'єктів установлено вірогідну перевагу анальбен-ретарду над ННА парацетамолом у 131 раз, а над специфічним інгібітором ЦОГ-2 целекоксивом — у 13,1 разу.

1. Ананьєва Л.П. // Терапия боли в ревматологии. — 2002. — Т. 4, № 8. — С. 12–15.*
2. Герасимова О.О., Іванов Л.В., Шаповал О.М. та ін. // Вісник фармації. — 2007. — Т. 50, № 2. — С. 71–74.
3. Карапеев А.Е. // Русский мед. журн. — 2009. — Т. 17, № 7. — С. 495–502.
4. Мохорт М.А., Яковлева Л.В., Шаповал О.М. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За редакцією член.-кор. АМН України О.В.Степанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 307–320.
5. Насонов Е.Л., Лазебник Л.Б., Беленков Ю.Н. и др. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: Клинические рекомендации. — Москва: Алмаз, 2006. — 88 с.
6. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Серікова І.І. та ін. // Клінічна фармація. — 1999. — Т. 3, № 1. — С. 96–98.
7. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левітін Є.Я. // ФАР. — 2001. — № 1. — С. 52–55.
8. Яковлева Л.В., Шаповал О.М. // Клін. фармація. — 2000. — Т. 4, № 2. — С. 41–45.
9. Baigent C., Patrono C. // Arthritis Rheum. — 2003. — № 48. — Р. 12–20.
10. Chen C, Bazan NG. // Neuroreport. — 2003. — Vol. 14, № 5. — Р. 743–747.
11. Lawand N.B., McNearney T., Wistlund N. // Pain. — 2006. — № 86. — Р. 69–74.
12. Lichtenstein DR, Wolfe MM. // J. of the American Medical Association. — 2006. — Vol. 284, № 13. — Р. 1297–1299.
13. Mamdani M. et al. // Arch. Intern. Med. — 2003. — Vol. 163, № 4. — Р. 123–125.
14. Parente L., Peretti M. // Biochem. Pharmacol. — 2003. — Vol. 65, № 2. — Р. 153–159.
15. Schattenkirchner M., Milachowski K.A. // Clin. Rheumatol. — 2003. — Vol. 22, № 2. — Р. 127–135.

Надійшла до редакції 13.07.2009.

O.N.Шаповал

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА «АНАЛЬБЕН-РЕТАРД» В СРАВНЕНИИ С СОВРЕМЕННЫМИ НЕСТЕРОИДНЫМИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ СРЕДСТВАМИ

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, анальгетическое действие, анальбен-ретард, мелоксикам, целекоксив, парацетамол

Установлено, что по выраженности и длительности анальгетического эффекта новый препарат имеет достоверное преимущество перед всеми референс-препаратами. Среднесуточный анальгетический эффект анальбен-ретарда более выражен по сравнению с анальгетическим действием селективного ингибитора ЦОГ-2 мелоксикама в 1,6 раза, специфического ингибитора ЦОГ-2 целекоксиба — в 1,9 раза и ненаркотического анальгетика парацетамола — в 1,4 раза. Однако если обратить внимание на значение условнотерапевтических доз препаратов, это преимущество является более значительным. При сравнении изучаемых доз установлено преимущество анальбен-ретарда перед парацетамолом в 131 раз, а перед целекоксивом — в 13,1 раза.

O.N.Shapoval

THE STUDY OF PERIFERICAL ANALGESIC ACTION OF NEW DRUG ANALBEN-RETARD IN COMPARISON WITH MODERN NSAID'S

Key words: nonsteroidal antiinflammatory drugs, analgetic action, analben-retard, meloxicam, celecoxib, paracetamol

S U M M A R Y

Was established, that Analben-retard surpassed of referens-drugs according to strong and long analgesic action. Analben-retard's mediedaily analgesic effects exceeded of Meloxicam's mediedaily analgesic action in 1.6 p, Celecoxib's mediedaily analgesic effect in 1.9 p and Paracetamol's mediedaily analgesic action in 1.4 p. The comparative of studying drug's doses showed strong preference of new drug. Thus, was established Analben-retard's preference in front of Paracetamol in 131 p and in front of Celecoxib in 13,1 p according to dose's analgesic effectiveness.

Л.В.ЯКОВЛЕВА, д-р фармац. наук, проф., Н.Я.МУЗИКА, асист.,
Ю.Б.ЛАР'ЯНОВСЬКА, канд. бiol. наук, С.О.МАЧУЛІНА

Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ СУПОЗИТОРІЙ «АЛЬТАБОР» НА СТРУКТУРУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРОСТАТИТУ У ЩУРІВ

Ключові слова: простатит, супозиторії «Альтабор», простатопротекторна активність

За даними статистики практично кожний третій чоловік віком 20–50 років страждає на хронічний простатит [3, 7]. Дане захворювання виникає внаслідок структурно-функціональних змін у передміхуровій залозі, причиною яких досить часто є гемодинамічні порушення [7]. Переїд хронічного простатиту призводить до чоловічого безпліддя та імпотенції [8–10].

Для фармакокорекції простатитів використовується комплексний підхід: лікування антибіотиками, протизапальними препаратами, проведення фізіотерапії. Лікарські засоби, які поєднують зазначені види фармакологічної дії та здатні впливати на стан передміхурової залози, називають простатопротекторами. В Україні вони представлені в основному імпортними препаратами, недоступними для більшості хворих через високу вартість [2]. Тому пошук та створення вітчизняних ефективних і малотоксичних лікарських засобів для фармакотерапії хронічного простатиту залишається актуальною проблемою сучасної медицини.

Перспективними об'єктами для вивчення у зазначеному сенсі є препарати рослинного походження, які мають ряд переваг. Вони комплексно впливають на більшість ланок патогенезу захворювання, в той час як синтетичні препарати мають більш вузький спектр дії. Більшість фітопрепаратів здатні одночасно зменшувати запалення, уповільнювати процеси ПОЛ в організмі та передміхуровій залозі, мають протимікробні властивості, відновлюють функціональну здатність до синтезу еякуляторного секрету та гормональний баланс, впливають на 5-альфа-редуктазу. Крім цього, простатопротектори рослинного походження мають значно меншу кількість побічних явищ, їх можна застосовувати протягом тривалого часу без ускладнень для хворого. Зокрема, вони не впливають на потенцію, що особливіс важливо [4].

Об'єктом наших досліджень є супозиторії «Альтабор», створені на основі субстанції альтабору, яка розроблена на ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» із шишок вільхи клейкої (*Alnus glutinosa L.*) і вільхи сірої (*Alnus cinerea L.*) родини Березові (*Betulaceae*). Субстанція альтабору містить переважно олігомерні елаготаніни на основі глукози, елагової і валонієвої кислот (60–70 %), а також полімери — меланінові водорозчинні пігменти (10–15 %), вуглеводи, водорозчинні полісахариди (5–7 %), вільні амінокислоти, фенолокислоти. За результатами попередніх досліджень було встановлено мембронопротекторні, протизапальні, аналгетичні, антиоксидантні властивості субстанції альтабору. Враховуючи патогенетичні механізми розвитку простатиту, дані результати стали підґрунтам для створення супозиторіїв «Альтабор» та визначення їх простатопротекторної активності в умовах патології.

Метою даної роботи стало дослідження впливу супозиторіїв «Альтабор» на морфоструктуру передміхурової залози в умовах експериментального простатиту. З огляду на те, що здебільшого хронічний простатит виникає як наслідок гемостатичних порушень у передміхуровій залозі, було обрано модель скіпидарного простатиту [6].

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на білих нелінійних щурах масою тіла 200–220 г. Експериментальний простатит викликали двократним ректальним введенням 1 мл суміші скипидару з димексидом у співвідношенні 3:1. Димексид використовували як пенетрант, що посилює проникність біомембран з метою більш повного всмоктування скипидару. Експериментальні тварини були розподілені по групах: інтактні щури (інтактний контроль); щури, яким вводили суміш скипидару з димексидом (контрольна патологія); щури, яким на тлі скипидару вводили супозиторії «Альтабор» або супозиторії з олією насіння гарбуза (препарат порівняння). Супозиторії «Альтабор» вводили щоденно з першого дня досліду ректально в умовнотерапевтичній дозі 50 мг/кг (за діючою речовиною), яку визначили у попередніх скринінгових дослідженнях. Супозиторії з олією насіння гарбуза вводили в дозі 60 мг/кг, яку розраховували за методом Ю.П.Риболовлєва [5].

Знекивлення тварин проводили на 9-й та 15-й дні експерименту за правилами біоетики. Під час розтину у щурів вилучали передміхурову залозу для світлооптичного дослідження. Зразки досліджуваного органа фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [1]. Аналіз мікропрепаратів проводили під мікроскопом «Біолам».

На зразках вивчали гістоструктуру різних відділів передміхурової залози: дорсолатеральної частки разом з кінцевими відділами сім'явивідних протоків та почковими ділянками сім'яних міхурців і передньої частки простати, зрізаних на рівні шийки сечового міхура; вільної центральної частки залози, а також ділянки перешийка центральних часток; окремих ділянок шийки сечового міхура.

Результати дослідження та їх обговорення

У самців щурів усіх експериментальних груп у дорсолатеральній частці передміхурової залози, що щільно прилягає до передньої стінки прямої кишки (у ділянці впадіння сім'явивідних протоків, проходження простатичної частини уретри і локалізації шийки сечового міхура), розташовані кінцеві відділи декількох типів простатичних залозок. У інтактних самців щурів поперечні профілі альвеол одних залозок досить великі за розмірами, уstellenі висококубічними епітеліальними клітинами. Ядра розташовані базально. Епітеліальна вистилка утворює нечисленні дрібнуваті складки. Щільність розташування альвеол досить варіабельна. У просвіті видно сітчастий секрет. У міжальвеолярній стромі визначається помірна кількість сполучнотканинних волокон. Наявні нечисленні гладком'язові елементи. Місцями визначаються дрібні судини венозного типу. Вміст клітинного елемента дуже помірний. Представлено поодинокі еозинофільні лейкоцити, нечисленні фібробласти, клітини лімфоїдного ряду (рис. 1а).

Поперечні профілі другого типу простатичних залозок вистелені низьким кубічним епітелієм. Складок слизова оболонка не утворює, розмір альвеол, як правило, невеликий, у просвіті досить часто визначається згусток щільного зернистого еозинофільного секрету. Навколо альвеол цих залозок добре представлена сполучна тканина. Тургор стінок альвеол добрий. Часто тут же простежуються зрізані поперечно і головні відділи вивідних протоків простатичних залоз. Клітини, що їх вистилають, дрібні, часто розташовані в кілька рядів (рис. 1б).

У більш периферичних відділах дорсолатеральної частини передміхурової залози (каудальних) ацинуси простатичних залозок вистелено циліндричним або висококубічним епітелієм. Ядра розташовані базально в один ряд. Альвеоли помірні за розмірами, слизова оболонка утворює численні складки. Щільність розташування самих альвеол і наявність пухковолокнистої міжкоміркової строми варіабельна, зростає в напрямку центр—периферія.

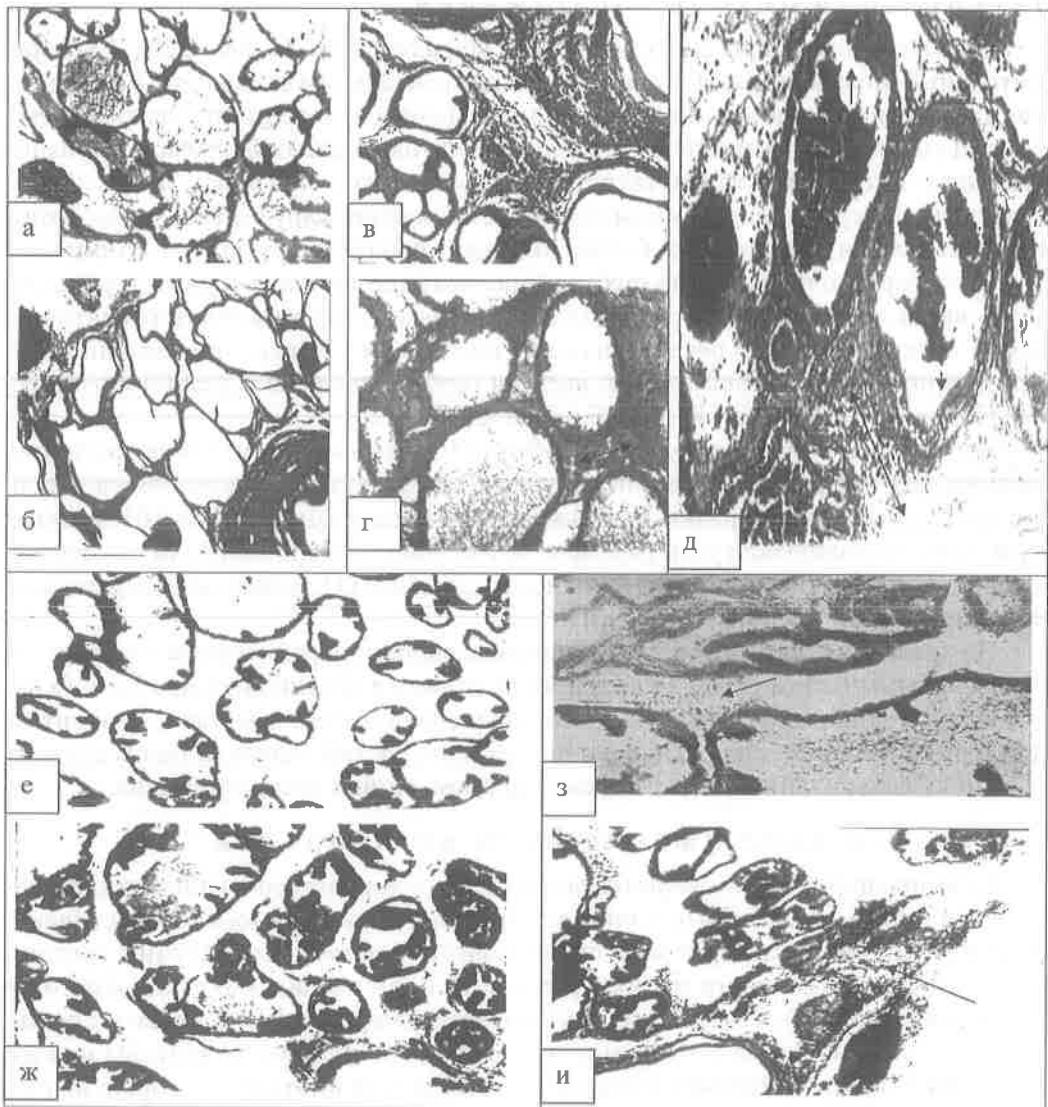


Рис. 1. Ділянка дорсолатеральної частини передміхурової залози щура: інтактного (а–б – ацинуси різних типів простатичних залозок без ушкоджень), нелікованого (в–г – 9-й день – запальна реакція (стрілка), набряк (фігурана стрілка) строми; д – 15-й день – порушення епітеліальної вистелки альвеол простатичних залоз (стрілки), виражена клітинна реакція у стромі (подвійна стрілка); лікованого супозиторіями «Альтабор» (е – 9-й, ж – 15-й день – відсутність змін запального та деструктивного характеру); лікованого супозиторіями з олією гарбуза (з – 9-й, и – 15-й день – різні за розміром осередки запалення). Гематоксилін та еозин х160, х250

Кінцеві відділи простатичних залозок, що розташовані у центральній частині залози, а також у ділянці перешийка, досить великі, овально-подовженої або помірно звитої форми. Тургор комірок усіх цих залоз у нормі. Пухковолокниста строма, в основному, представлена у ділянці перешийка.

Дворазове ректальне введення скіпидару викликає ряд змін переважно в дорсолатеральній частині передміхурової залози, а саме в тій її частині, що щільно прилягає до стінки прямої кишки. Через 9 днів від початку експерименту ці зміни виражаються у розширенні і повночорв'ї дрібних кровоносних судин, у ряді випадків у вираженому набряку строми, появлі клітинних скучень у міжальвеолярній стромі. Серед клітин інфільтратів переважають еозинофільні лейкоцити (рис. 1в, г). Навдає змін і епітеліальна вистилка ряду альвеол – клітини сплющені, злущуються у просвіт, секрет згущено. У парапростатичній клітковині кровоносні судини різко

розширені, дуже повнокровні, часто виявляються периваскулярні круглоклітинні скупчення. Виражене повнокрів'я кровоносних судин відзначено і в ділянці перешийка вентральних часток простати. Стан простатичних залозок і строми в інших переглянутих ділянках залозистої тканини істотно не змінюється.

Через 15 днів після початку експерименту у більшості щурів описані вище зміни збільшуються (рис. 1 д).

Після лікування супозиторіями «Альтабор» ознак запального та деструктивного характеру у найбільш вразливих ділянках дорсолатеральної частки передміхурової залози, що були б аналогічними групі контрольної патології, не спостерігали у переважної більшості самців щурів ні на 9-й, ні на 15-й день експерименту (рис. 1 е, ж). В окремих випадках спостерігали невелике підвищення клітинної насиченості міжальвеолярної строми поблизу сім'явиносної протоки.

Під впливом супозиторіїв з олією насіння гарбуза на фоні розвитку патології на 9-й день помітних змін запального характеру у стромі дорсолатеральної частки передміхурової залози поблизу проходження сім'явиносної протоки, простатичної частини уретри не відзначено. Дещо збільшена насиченість міжальвеолярної строми еозинофільними лейкоцитами (рис. 1з). Ацинуси простатичних залоз велиki за розміром, стінки їх мають добрий тургор.

На 15-й день застосування супозиторіїв з олією насіння гарбуза приблизно у половини щурів відзначено осередки запалення (з переважанням еозинофільних лейкоцитів) (рис. 1и). Стан простатичних залозок при цьому помітно не змінився.

Висновки

1. Двократне ректальне введення скіпидару щурам викликає в дорсолатеральній частині передміхурової залози тварин, тих її ділянках, що безпосередньо щільно примикають до передньої стінки прямої кишki, виникнення підгострого патологічного процесу. Патоморфологічна характеристика цього процесу зводиться до розвитку алергічного осередкового запалення міжацинарної строми, деструкції ряду ацинусів простатичних залоз. Ці зміни нарощують у частині щурів у міру подовження періоду спостереження. При цьому відзначається порушення місцевої геодинаміки.

2. Введення супозиторіїв «Альтабор» виражено зменшує інтенсивність алергічної запальної реакції у міжацинарній стромі найбільш вразливих ділянок дорсолатеральної частини передміхурової залози щурів після двократного ректального введення скіпидару. У тканині відсутні мікроциркуляторні порушення, функціонально-структурний стан простатичних залозок залишається незміненим.

3. Після введення супозиторіїв з олією насіння гарбуза помітний позитивний вплив на розвиток запально-деструктивних явищ у дорсолатеральній частині передміхурової залози спостерігається лише на 9-й день експерименту порівняно з контрольною патологією. З подовженням терміну спостереження протизапальна дія препарату порівняння знижується, таким чином, він поступається супозиторіям «Альтабор» за терапевтичною дією.

1. Гистология / Под ред. Ю.И.Афанасьева, Н.А.Юриной. — М.: Медицина, 1999. — 744 с.
2. Компендіум 2007 — лікарські препарати / За ред. В.М.Коваленко, О.П.Вікторова. — К.: МОРИОН, 2007. — 1664 с.
3. Мартин И., Резник Э., Новак К. Секреты урологии. — СПб.: Binom Publishers, 2002. — 400 с.
4. Простатопротекторы / Под ред. С.М. Дроговоз. — Х., 2005. — С. 20—21.
5. Рыболовлев Ю.П., Рыболовлев Р.С. // Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513—1516.
6. Хейфец В.Х., Забежинский М.А., Хролович А.Б. и др. // Урология. — 1999. — № 5. — С. 48—53.
7. Gerald J. Domingue Sr., Wayne J. G. // Clinical Microbiology Reviews. — October 1998. — Vol. 11, №. 4. — P. 604—613.
8. Ja Hyeon Ku, Soo Woong Kim // International j. of androlidy. — 2005. — Vol. 28, № 6. — P 317—327.

9. Resnik M.I., Thompson J.M. Advanced therapy of prostate disease / Published by B.C. Decker Inc. – 2000. – 684 p.
10. Shaefner F.J. // European Urology Supplements. – 2003. – № 2. – P 5–10.

Надійшла до редакції 20.05.2008.

Л.В.Яковлева, Н.Я.Музика, Ю.Б.Ларьоновская, С.О.Мачулина

ВЛИЯНИЕ СУППОЗИТОРИЕВ «АЛЬТАБОР» НА СТРУКТУРУ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРОСТАТИТА У КРЫС

Ключевые слова: простатит, суппозитории «Альтабор», простатопротекторная активность

Изложены результаты исследования влияния нового полифенольного средства — суппозиториев «Альтабор» на структуру предстательной железы в условиях экспериментального простатита.

Была использована модель склеродарного простатита у самцов крыс. Суппозитории «Альтабор» вводили ректально в условно-терапевтической дозе 50 мг/кг. Сроки введения составляли 9, 15 дней. Препарат сравнения — суппозитории с маслом семян тыквы вводили в дозе 60 мг/кг.

По результатам исследования суппозитории «Альтабор» проявляют выраженный терапевтический эффект, который превосходит действие препарата сравнения. Исследуемое средство уменьшает интенсивность аллергической воспалительной реакции, вызванной ректальным введением склеродара, в строме дорсолатеральной части предстательной железы. Препарат предотвращает возникновение в ткани органа микроциркуляторных нарушений и сохраняет функционально-структурное состояние простатических железок.

Суппозитории «Альтабор» являются перспективным препаратом для углубленного исследования с последующим внедрением в промышленное производство и медицинскую практику.

L.V.Jakovleva, N.J.Muzyka, Y.B.Laryanovskaya, S.A.Machulina

THE IMPACT OF «ALTABOR» SUPPOSITORIES ON PROSTATE GLAND IN EXPERIMENTAL PROSTATITIS CONDITIONS IN RATS

Key words: prostatitis, suppositorium «Altabor», prostatoprotective activity

SUMMARY

The article narrates about the results of investigation of impact of the new remedy — suppositorium «Altabor» on the structure of the prostate in the condition of the experimental prostatitis.

The model of turpentine prostatitis in the male of rats was used. Suppositorium «Altabor» was inserted per rectum in dose 50 mg/kg. Terms of introduction were 9,15 days. The preparation of comparison — suppositorium with oil of seeds of pumpkin was inserted in dose 60 mg/kg.

According to the results of researches it was established that suppositorium «Altabor» show expressed therapeutic effect, which surpasses action of preparation of comparison. Suppositorium «Altabor» reduces the intensity of allergic inflammatory reaction caused per rectum in turpentine. The preparation removes the rise in the tissue of organ microcircular violation and preserves functional structural condition of prostate.

Suppositorium «Altabor» are a perspective preparation for more profound research with the subsequent introduction in industrial production and medical practice.

В.В.ДЕРКАЧЕВСЬКА, асистент

Луганський державний медичний університет

ВПЛИВ КОРВІТИНУ НА СТАН АДЕНІЛНУКЛЕОТИДНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ ІЗ КАЛОВИМ ПЕРИТОНІТОМ

Ключові слова: каловий перитоніт, корвітин, ендотоксикоз, аденілнуклеотидна система

Перитоніт є дуже складним у патогенетичному відношенні захворюванням, яке дотепер займає одне з центральних місць серед ускладнень у лікуванні хвороб і травм черевної порожнини [1]. Летальність від цього захворювання становить 20–80 % [12, 15], причиною чого є ендогенна інтоксикація, а також ушкодження функціонального стану печінки, нирок та інших органів. Усе це провокує накопичення ендотоксинів, які призводять до розвитку гіпоксії та дестабілізації метаболізму [2, 5, 8]. Разом з тим серйозних змін за умов перитоніту зазнає енергетичний обмін внаслідок значного порушення цілісності мітохондріальних мембрани, що веде до переходу на менш ефективні шляхи синтезу макроергів, які використовуються для забезпечення енергії різних біохімічних та фізіологічних процесів [16].

Враховуючи вищевикладений стан при каловому перитоніті, постає актуальне питання у необхідності включення у комбіновану фармакотерапію даної форми ендотоксикозу препаратів, що мають значні енергозберігаючі властивості, а також можуть бути ефективними та безпечними у боротьбі з основною причиною високих показників летальності – ендотоксикозом [9, 13, 14]. Виходячи з порівняльної оцінки фармакодинамічних ефектів, до таких ліків, на нашу думку, повною мірою можна віднести новий біофлавоноїдний препарат «Корвітин».

Мета дослідження – вивчити в динаміці стан аденілнуклеотидної системи у тварин із каловим перитонітом на тлі застосування біофлавоноїдного препарату «Корвітин».

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на 91 білому безпородному щурі обох статей масою тіла 200–240 г у лабораторії кафедри фармакології Луганського державного медичного університету, сертифікованій Державним фармакологічним Центром (ДФЦ) МОЗ України (свідоцтво № 3 від 25 грудня 2008 р.) у повній відповідності до методичних рекомендацій ДФЦ [11].

Експериментальною моделлю був патологічний процес, що розвивається на тлі калового перитоніту, який моделювали шляхом одноразового вінутрішньоочеревинного введення 10% калової зависі із розрахунку 300 мг/кг.

Усіх тварин було поділено на 5 груп: інтактну, контроль № 1, контроль № 2, дослідну та референтну. Щурам дослідної серії фармакотерапію даного екстремального стану проводили комбінацією двох препаратів – антибіотиком ванкоміцином (виробництво «Тева Фармацевтичні Підприємства Лтд. Завод Хуман» з виробництва вакцин і лікарських засобів Ко. Лтд., Угорщина) та біофлавоноїдним препаратом «Корвітин» (виробництво ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) за умов їх внутрішньоочеревинного введення в такому режимі дозування: за 1 год та через 6 год 40 хв від моменту введення 10% калової зависі застосовували ванкоміцин у дозі 20 мг/кг (0,2% водний розчин) і корвітин у дозах 368,6 мг/кг та 389 мг/кг відповідно у вигляді 10% водного розчину. Тварини референтної групи отримували дозу ванкоміцину, що й у дослідній групі, і препарат

порівняння — тіотриазолін (АТ «Галичфарм», корпорація «Артеріум», Україна) із розрахунку 117 мг/кг у вигляді 2,5% водного розчину, у тому самому режимі дозування [3]. Щури контрольної групи № 2 отримували у вищезазначеному дозовому режимі дозування ванкоміцин, а контрольної групи № 1 — внутрішньоочеревинно еквіважну кількість 0,9% розчину натрію хлориду.

Визначення концентрації АТФ, АДФ і АМФ в еритроцитах проводили методом тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинах фірми «Sorbfil» (Росія) [6].

Концентрацію фосфору неорганічного (Φ_{II}) визначали за допомогою наборів «Філісіт Діагностика» (Україна).

На підставі отриманих даних про пул аденілових нуклеотидів і кількісний вміст Φ_{II} розраховували такий показник, як ступінь фосфорилювання (СФ) за співвідношенням СФ = АТФ/(АДФ* Φ_{II}) [10].

Усі показники вивчали в динаміці: через 18, 42 і 78 год з моменту моделювання калового перитоніту.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента [4].

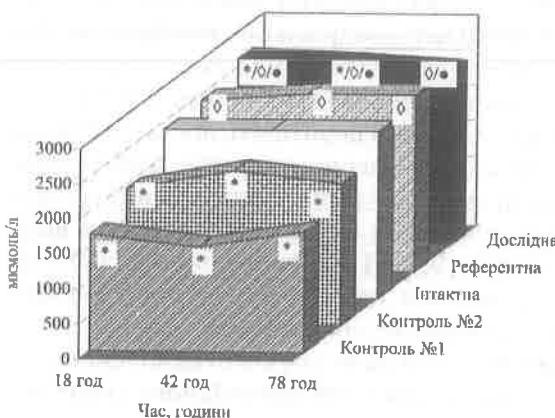


Рис. 1. Вплив корвітину на рівень АТФ у щурів із перитонітом (n=7):

- * — P<0,05-0,001 — порівняння з інтактною групою;
- ♦ — P<0,05-0,001 — порівняння з контролем № 1;
- — P<0,05-0,001 — порівняння з контролем № 2;
- ▲ — P<0,05-0,001 — порівняння з референтною групою

Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведеної серії досліджень були виявлені велими серйозні порушення в енергетичному гомеостазі тварин із каловим перитонітом, про що свідчить значний дисбаланс у співвідношенні пулу аденілових нуклеотидів із значним зниженням рівня АТФ порівняно з інтактними тваринами (рис. 1). Це особливо чітко визначається у контрольній групі № 1, де рівень АТФ у тварин знижується на 30 % вже на 18-й годині від моменту моделювання патології. В усіх інших терміні спостережень (42 та 78 год) не має будь-якої тенденції до відновлення АТФ, рівень якого становить 37 % та 27 % від рівня інтактних тварин відповідно. Як видно з рис. 2, рівень іншого макроергу — АДФ у щурів контролю № 1 у всі терміни дослідження навіть перевищує показники інтактної серії тварин, в середньому на 14 %. Таке підвищення вмісту даного нуклеотиду може бути пояснено вірогідно високим порівняння з інтактною групою рівнем АМФ (P < 0,001), який може вступати в реакцію з АТФ та утворювати дві молекули АДФ, які, як відомо, є менш ефективними носіями енергії (рис. 3).

Зовсім інша ситуація спостерігається у тварин дослідної групи, де

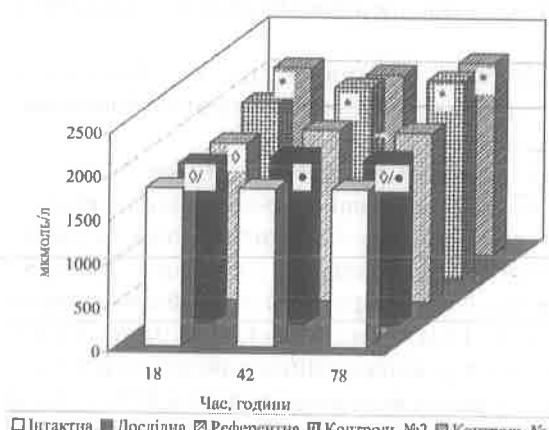


Рис. 2. Вплив корвітину на рівень АДФ у щурів із перитонітом (n=7).

Примітка: див. рис. 1.

рівень АТФ на 18-, 42- та 78-й годинах дослідження на 36%, 41% і 29% відповідно вищий, ніж у тварин без лікування (контроль № 1), а також у щурів на фоні застосування антибіотика (контроль № 2) — на 26%, 14% і 18% відповідно. Порівняння цих результатів з такими, що визначені в інтактній групі, дає змогу стверджувати про наявність значних енергозберігаючих властивостей, притаманних корвітину. Саме на 18- та 42-й годинах застосування цього препарату спостерігається підвищення вмісту АТФ порівняно з інтактними тваринами в середньому на 8 %, а на 78-й годині дослідження кількісні співвідношення даного макроергу вже не мають вірогідних відмінностей ($P > 0,05$). При цьому дуже важливо зазначити, що протягом усього експерименту рівень АТФ у дослідній та референтній групах тварин не має вірогідних відмінностей ($P > 0,05$).

Що ж стосується динаміки змін концентрації АДФ, то у тварин, які отримували корвітин в якості фармакокорекції, у всі терміни дослідження показники цього макроергу є дуже близькими до таких, що визначаються у референтній та інтактній групах ($P > 0,05$) (див. рис. 2).

Рівень АМФ у дослідній групі на 18-, 42- та 78-й годинах є нижчим за такі показники у контролі № 1 — на 25 %, 30 % і 35 % та в контролі № 2 — на 22 %, 19 % і 34 % відповідно строкам дослідження. Аналіз цих результатів у порівняльному аспекті дає змогу дійти висновку про те, що перебіг модельованої форми перитоніту характеризується роз'єднанням процесів окиснення та фосфорилювання. Водночас застосування корвітину запобігає порушенню енергосинтезуючих процесів.

Отже, отримані дані свідчать про серйозні порушення енергозабезпечення клітин за умов калового перитоніту, що однозначно підтверджується значним дисбалансом макроергів. На користь такого судження свідчить зменшення вмісту АТФ і відповідне вірогідне збільшення кількості АМФ, що вказує на виснаження енергетичних ресурсів клітини. Підвищення ж кількості АТФ та збереження резерву АДФ за умов застосування корвітину свідчить про його значний енергопротективний потенціал, який, скоріше за все, реалізується за рахунок активації процесів фосфорилювання.

Для більш повного оцінювання впливу корвітину на стан енергетичного гомеостазу в організмі щурів із каловим перитонітом необхідно розглянути у порівняльному аспекті не тільки кількісні співвідношення в системі АТФ—АДФ—АМФ, а ще і динаміку змін концентрації невід'ємного компоненту синтезу макроергів — Φ_{II} .

Із даних, наведених у таблиці, видно, що у сироватці тварин із каловим перитонітом (контроль № 1) у всі терміни дослідження спостерігається вірогідне зниження рівня Φ_{II} порівняно з показниками інтактної групи ($P < 0,001$).

У тварин, що отримували корвітин, рівень Φ_{II} перевищував такий, що є у контролі № 1, на 18-, 42- та 78-й годинах на 30 %, 26 % і 24 % відповідно. Більше того, у дослідній групі в усі терміни дослідження концентрація Φ_{II} вірогідно вище не тільки за аналогічний у контролі № 2 ($P < 0,01–0,05$), але і не має вірогідних відмінностей із референтною та інтактною групами ($P > 0,05$).

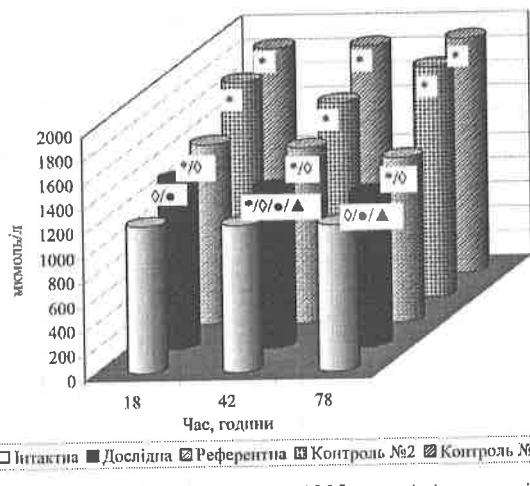


Рис. 3. Вплив корвітину на рівень АМФ у щурів із перитонітом ($n=7$).

П р и м і т к а: див. рис. 1.

Вплив корвітину на динаміку значень фосфору неорганічного та ступеня фосфорилювання за умов калового перитоніту (n=7)

Група тварин	Статистичний показник	Терміни дослідження (години)		
		18	42	78
Фосфор неорганічний ($\Phi_{\text{н}}$)				
Інтактна	M ± m	2,22 ± 0,02		
Контроль № 1	M ± m P_1	1,44 ± 0,02 <0,001	1,57 ± 0,02 <0,001	1,70 ± 0,02 <0,001
Контроль № 2	M ± m P_1	1,85 ± 0,03 <0,001	1,97 ± 0,02 <0,001	2,09 ± 0,01 <0,001
Дослідна	M ± m P_1	2,07 ± 0,04 <0,05	2,13 ± 0,04 >0,05	2,23 ± 0,04 >0,05
	P ₂	<0,001	<0,001	<0,05
	P ₃	<0,01	<0,01	<0,05
	P ₄	>0,05	>0,05	>0,05
Референтна	M ± m P_1 P_2	2,00 ± 0,02 <0,001 <0,01	2,17 ± 0,02 >0,05 <0,001	2,22 ± 0,02 >0,05 <0,001
Ступінь фосфорилювання (СФ)				
Інтактна	M ± m	0,59 ± 0,02		
Контроль № 1	M ± m P_1	0,55 ± 0,02 >0,05	0,47 ± 0,01 <0,01	0,47 ± 0,02 <0,01
Контроль № 2	M ± m P_1	0,53 ± 0,02 >0,05	0,52 ± 0,001 <0,05	0,43 ± 0,03 <0,01
Дослідна	M ± m P_1	0,69 ± 0,03 <0,05	0,63 ± 0,02 >0,05	0,59 ± 0,03 >0,05
	P ₂	<0,01	<0,001	<0,05
	P ₃	<0,01	<0,001	<0,01
	P ₄	>0,05	>0,05	>0,05
Референтна	M ± m P_1 P_2	0,67 ± 0,04 >0,05 <0,05	0,60 ± 0,03 >0,05 <0,01	0,59 ± 0,02 >0,05 <0,01

П р и м і т к а: 1. P_1 – вірогідно порівняно з інтактною групою; 2. P_2 – вірогідно порівняно з контролем № 1; 3. P_3 – вірогідно порівняно з контролем № 2; 4. P_4 – вірогідно порівняно з референтною групою.

Особливу увагу також приділено аналізу динаміки СФ, що визначає здатність клітин до синтезу АТФ з АДФ і $\Phi_{\text{н}}$ і являє собою «співвідношення діючих мас», яке свідчить про інтенсивність процесів фосфорилювання. СФ залежить від концентрації $\Phi_{\text{н}}$ і прямо пов’язаний з вільною енергією, що звільняється при гідролізі АТФ [7].

Як видно з даних, наведених у таблиці, у тварин на фоні прогресування перитоніту вже на 18-й годині аналізований показник не має вірогідних відмінностей з інтактною групою ($P > 0,05$), а на 42-й та 78-й годах є меншим на 20 %.

У тварин дослідної групи значення СФ перевищують такі у контролі № 1 на 18-, 42-, 78-й годах на 20 %, 32 % та 20 % відповідно, а також у контролі № 2 у середньому на 22 %. Також СФ дослідної серії в усі терміни дослідження не має вірогідних відмінностей з референтною групою ($P > 0,05$), а на 18-й годині навіть перевищує отримані значення в інтактних тварин на 15 % ($P < 0,05$).

Таким чином, включення у комбіновану фармакотерапію корвітину сприяє підтриманню концентрації $\Phi_{\text{н}}$ на рівні здорових тварин, на відміну від суттєвого зниження аналогічних значень показника що вивчається, у тварин без лікування (див. табл.). Також підтвердженням ефективного використання $\Phi_{\text{н}}$ за умов застосування корвітину є отримані в експерименті дані СФ, які свідчать про високу здатність клітин до синтезу АТФ, що, у свою чергу, підтверджує адекватність заповнення системи аденоїлових нуклеотидів високоенергетичними фосфатними зв’язками.

Висновки

1. Експериментально підтверджено, що введення тваринам комбінації препаратів ванкоміцину та корвітину значно поліпшує стан енергетичного обміну при каловому перитоніті. Про це свідчить співвідношення у системі високоенергетичних сполук АТФ—АДФ—АМФ, де на фоні застосування корвітину спостерігається підвищення рівня АТФ в 1,6 разу відносно показників тварин без лікування, що також дає можливість стверджувати наявність значних енергозберігаючих властивостей у біофлавоноїдного препарату «Корвітин» за умов досліджуваної форми ендотоксикозу.

2. Енергозберігаючий ефект корвітину також реалізується за рахунок підвищення кількості метаболічно-вагомого компоненту регуляторної системи Φ_{ii} , який потрібен для активації ефективніших шляхів синтезу АТФ та стабілізації процесів окисного фосфорилювання, що зазнають серйозних порушень при каловому перитоніті.

1. Багненко С.Ф., Белоцерковский Б.З., Брискин Б.С. и др. Перитонит: практическое руководство. — М.: Литтерра, 2006. — 208 с. — (Серия «Практические руководства»).
2. Бойко В.І. // Педіатрія, акушерство та гінекологія. — 2007. — № 1. — С. 91–93.
3. Болгов Д.М. Лікування — профілактична ефективність тіотриазоліну при синдромі тривалого роздавлювання: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія». — К., 2003. — 20 с.
4. Гланц Стентон Медико-биологическая статистика / Пер с англ. Ю.А.Данилова, под ред. Н.Е.Бузикашвили, Д.В.Самойлова. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
5. Гордійчук П.І. // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О.Можаєва. — 2002. — № 3. — С. 31–35.
6. Захарова Н.В. // Лабораторное дело. — 1980. — № 12. — С.735–738.
7. Мецлер Д. Биохимия: В 3 т. / Пер. с англ. — М.: Мир, 1980. — Т.2: Химические реакции в живой клетке. — 606 с.
8. Петров В.П., Выренков Ю.Е., Рожков А.Г. и др. // РЖГК. — 2006. — № 6. — С. 35–39.
9. Плоткин Л.Л., Конашев А.Г., Киршенштейн А.С. и др. // Анестезиология и реаниматология. — 2000. — № 2. — С. 35–36.
10. Рисухина Н.В. // Український медичний альманах. — 2008. — №4. — С. 126–132.
11. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации. — К., 2002. — 567с.
12. Юдакова О.В., Григорьев Е.В. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2004. — № 10. — С. 20–22.
13. Ames B.N., Hollstein M.C., CATCHART R. Lipid peroxydation and oxidative decay to DNA / Upid peroxydes in biology and medicine/ Ed. by K. Vadi. — N.Y.: Acad. Press, 1982. — P. 339 — 351.
14. Deitch E.A., Vincent J.L., Sounders W.B. Sepsis and multiple organ dysfunction. — London, 2002. — 237 p.
15. Hellibrand D.J. // Hosp Pract. — 2000. — N 35 (5). — P. 87–90.
16. Nathens A.B., Rotstein O.D., Marshal J.C. // World J Surg. — 1998. — N 22. — P. 158–163.

Надійшла до редакції 08.12.2009

B.B. Деркачевская

ВЛИЯНИЕ КОРВИТИНА НА СОСТОЯНИЕ АДЕНИЛНУКЛЕОТИДНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС С КАЛОВЫМ ПЕРИТОНИТОМ

Ключевые слова: каловый перитонит, корвитин, эндотоксикоз, аденилнуклеотидная система

Представлены данные о влиянии корвитина на соотношение основных макроэргов аденилнуклеотидной системы в условиях калового перитонита. Изучаемый биофлавоноидный препарат при моделируемой форме патологии действительно способен эффективно предупреждать дисбаланс в системе АТФ—АДФ—АМФ, что свидетельствует о стабилизации процессов окислительного фосфорилирования в организме крыс с перитонитом.

Полученные результаты подтверждают наличие значительной энергосберегающей активности корвитина, что определяет целесообразность проведения дальнейших исследований фармакодинамических эффектов корвитина в условиях калового перитонита.

INFLUENCE OF CORVITINUM ON THE STATE OF ADENYL NUCLEOTIDE SYSTEM OF RATS WITH FECAL PERITONITIS

Key words: fecal peritonitis, corvitinum, endotoxicosis, adenyl nucleotide system

SUMMARY

In the article is presented information about influence of corvitinum on correlation of main high-energy compounds of the adenyl nucleotide system in conditions of fecal peritonitis. Studied bioflavonoid drug in modelled form of pathology is able to prevent effectively an imbalance in ATP—ADP—AMP system that confirms stabilisation of oxidative phosphorylation processes in the organisms of rats with peritonitis.

Results, which have been received, convincingly indicate considerable energysaving activity of corvitinum, that emphasize on reasonability of further researches of pharmacodynamics effects of corvitinum in conditions of fecal peritonitis.

УДК 615.322:541.452

I.Л.БЕНЗЕЛЬ, аспірант, Р.Є.ДАРМОГРАЙ, канд. фармац. наук, доц., Л.В.БЕНЗЕЛЬ, канд. фармац. наук, доц.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ АСКОРБІНОВОЇ ТА ВІЛЬНИХ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ У ФІТОСУБСТАНЦІЯХ БАДАНУ ТОВСТОЛИСТОГО

Ключові слова: бадан товстолистий, фіtosубстанції, аскорбінова кислота, органічні кислоти

Пошук і створення нових безпечних та ефективних лікарських засобів рослинного походження, а також раціональне та комплексне використання сировини дикорослих і культивованих рослин України залишається актуальним завданням сучасної наукової та практичної фармації. Однією з таких рослин є бадан товстолистий (*Bergenia crassifolia*) родини ломикаменевих (*Saxifragaceae*).

Кореневище та листя бадану товстолистого містять комплекс діючих речовин, основними серед яких є дубильні речовини, арбутин, бергенін, бергенова кислота, флавоноїди, полісахариди, вітаміни, органічні кислоти, амінокислоти та інші сполуки [6, 10–12]. У результаті фармакологічних досліджень було встановлено значну інтерфероніндукуючу активність люфілізованих фіtosубстанцій із листя бадану товстолистого, яка залежала від особливостей хімічного складу, природи індивідуальних сполук та способів їх одержання [1, 9].

Основним із факторів, що зумовлює фармакологічну активність лікарської рослинної сировини (ЛРС), є якісний та кількісний вміст у ній різних груп біологічно активних речовин (БАР). Одними з них є аскорбінова та органічні кислоти [4, 13]. Вільні аскорбінова та органічні кислоти мають різноманітні біологічні властивості. Відомо, що вони сприяють зменшенню процесів нітрозування в організмі та зниженню хімічного канцерогенезу. Деякі кислоти мають антиоксидантні, протиалергічні та протизапальні властивості, а також втамовують спрагу, беруть участь в обміні речовин, підвищують захисні сили і життєвий тонус організму. Яблучна кислота впливає на засвоєння заліза організмом та синтез гемоглобіну. Крім цього, органічні кислоти широко використовують у косметології як кератолітичні засоби. Містяться вони в усіх органах рослин у вільному стані у вигляді солей, ефірів, димерів та сполук з іншими речовинами [5, 7, 8].

Тому завданням нашого дослідження було виявити аскорбінову та органічні кислоти в ліофілізованих фітосубстанціях, одержаних із сухого і свіжого листя бадану товстолистого відповідно до розроблених попередньо оптимальних умов [1], а також встановити їх кількісний вміст.

Експериментальна частина

Для проведення якісного вивчення аскорбінової та вільних органічних кислот 0,2 г ліофілізатів розчиняли в 4 мл 30 % етанолу, нагрівали на водяній бані протягом 15 хв, охолоджували та відфільтровували крізь паперовий фільтр. Одержані розчини наносили на хроматографічний папір марки «Filtrak FN-1» і вивчали методом висхідної хроматографії у системах розчинників: етилацетат—мурашина кислота—вода (3:1:1), етилацетат—оцтова кислота—вода (3:1:3) та н-бутанол—мурашина кислота—вода (10:1:4) порівняно з достовірними зразками. Після висушування хроматограми обробляли 0,05% спиртовими розчинами бромтимолового синього і бромкрезолового зеленого та 0,1% спиртовим розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію [2]. На хроматограмах з'являлися жовті плями на синьому фоні, сині плями — на білому фоні та рожеві плями — на блакитному фоні відповідно, що свідчить про наявність органічних кислот у фітосубстанціях. Хроматографічні характеристики виявлені кислот наведено в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

Хроматографічне дослідження органічних кислот ліофілізованих фітосубстанцій бадану товстолистого

Назва кислоти	Величина Rf в системах розчинників (середнє з трьох визначень)		
	1	2	3
Яблучна	0,50	0,41	0,62
Лимонна	0,42	0,39	0,46
Щавлева	0,63	0,56	0,64
Янтарна	0,75	0,79	0,79
Винна	0,32	0,35	.. 0,28
Піровиноградна	0,95	0,93	0,87
Аскорбінова	0,31	0,51	0,34

При метки: 1 — етилацетат—мурашина кислота—вода (3:1:1); 2 — етилацетат—оцтова кислота—вода (3:1:3); 3 — н-бутанол—мурашина кислота—вода (10:1:4).

Таблиця 2

Хроматографічний аналіз органічних кислот ліофілізованих субстанцій, отриманих із сухого та свіжого листя бадану товстолистого

Фіто-субстанція листя бадану	Назви органічних кислот						
	яблучна	лімонна	щавлева	янтарна	винна	піровиноградна	аскорбінова
Повітряно-суха ЛРС							
Водна	+	+	+	+	+	+	+
Водно-спиртова	+	-	+	-	-	+	+
Водно-ацетонова	+	-	+	-	+	-	+
Свіжа ЛРС							
Водна	+	+	+	+	+	+	+
Водно-спиртова	+	-	+	-	-	+	+
Водно-ацетонова	+	-	+	-	-	+	+

При метки: 1. «+» — наявність кислоти у фітосубстанції; 2. «-» — відсутність кислоти у фітосубстанції.

У порівнянні з вірогідними зразками в ліофілізованих екстрактах із сухого та свіжого листя бадану товстолистого були виявлені яблучна, лімонна, щавлева,

янтарна, винна, піровиноградна та аскорбінова кислоти. Результати хроматографічного дослідження зазначених кислот наведено в табл. 2. З-поміж них яблучна, щавлеву та аскорбінова кислоти наявні в усіх досліджуваних рослинних субстанціях. Домінуючою за розміром та інтенсивністю забарвлення плям при хроматографічному аналізі на папері є яблучна кислота.

Для кількісного аналізу органічних кислот 1,0 г фітосубстанції розчиняли в 40 мл води очищеної, відфільтровували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 50 мл та доводили об'єм розчину водою до мітки. Загальний вміст вільних органічних кислот встановлювали титруванням водних розчинів ліофілізованих субстанцій листя бадану товстолистого розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) за наявністю індикатора фенолфталеїну в перерахунку на яблучну кислоту. Кількісне визначення аскорбінової кислоти в досліджуваних фітокомплексах проводили методом окисно-відновного титрування розчином 2,6-дихлор-феноліндофеноляту натрію (0,001 моль/л) згідно з фармакопейною методикою [2]. Визначення вмісту вищезазначених речовин здійснювали в п'ятикратній повторності з подальшою статистичною обробкою отриманих даних [3]. Результати визначення наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Результати кількісного визначення органічних кислот ліофілізованих субстанцій, отриманих із сухого та свіжого листя бадану товстолистого

Фітосубстанція листя бадану	Кількісний вміст БАР в %, $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$, n=5	
	сума органічних кислот	аскорбінова кислота
Повітряно-суха ЛРС		
Водна	19,52±0,72	0,36±0,05
Водно-спиртова	19,14±0,68	0,29±0,07
Водно-ацетонова	17,20±0,44	0,23±0,04
Свіжа ЛРС		
Водна	11,51±0,45	0,24±0,05
Водно-спиртова	5,34±0,27	0,23±0,02
Водно-ацетонова	8,88±0,31	0,19±0,02

Як видно з даних, наведених у табл. 3, ліофілізовані фітосубстанції з листя бадану товстолистого містять значну кількість органічних кислот, що може мати вплив на їх фармакологічну активність. Більша їх кількість спостерігається в субстанціях із сухого листя і перебуває в межах від 19,52 % до 17,20%, дещо нижчою вона є у фітокомплексах із свіжого листя (11,51–5,34 %). Найкращим екстрагентом органічних кислот, що використовували для отримання субстанцій, є вода як з повітряно-сухої, так і з свіжої ЛРС.

Кількісний вміст аскорбінової кислоти у ліофілізованих фітоекстрактах становить 0,19–0,36 %. Найвищим він виявився у субстанції із сухої сировини, одержаної екстрагуванням водою, а найнижчим – у водно-ацетоновому сухому екстракті із свіжого листя. Використання водно-спиртової суміші як екстрагенту дало можливість одержати фітокомплекси із вмістом аскорбінової кислоти в межах 0,23–0,29 %.

Висновки

1. Проведено якісне та кількісне дослідження вільних органічних кислот у ліофілізованих фітокомплексах листя бадану товстолистого.
2. За допомогою хроматографії на папері виявлено аскорбінову, винну, лимонну, піровиноградну, щавлеву, яблучну та янтарну кислоти.
3. Встановлено кількісний вміст суми вільних органічних кислот у сухих екстрактах. У перерахунку на яблучну кислоту він перебував у межах від 5,34 % до 19,52 % та залежав від способу одержання ліофілізату.
4. Кількісний вміст аскорбінової кислоти в досліджуваних комплексних фітосубстанціях бадану товстолистого становить 0,19–0,36 % і залежить від способу одержання останніх.

- Бензель І.Л., Козловський М.М., Дармограй Р.Є., Бензель Л.В. // Фармац. журн. – 2009. – № 6. – С. 84–89.
- Государственная фармакопея СССР. – 11-е изд. – Вып. 2. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
- Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РИРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.
- Ємельянова І.В., Ковалев В.М., Ковалев С.В., Журавель І.О. // Фармац. журн. – 2009. – № 1. – С. 80–83.
- Коновалова О.Ю., Мітченко Ф.А., Шураєва Т.К. Біологічно активні речовини лікарських рослин. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. – 352 с.
- Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М.Гродзінський. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. – С. 49–50.
- Максютина Н.П., Комисаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. Растворимые лекарственные средства / Под ред. Н.П.Максютиной. – К.: Здоров'я, 1985. – 280 с.
- Михайлов И.В. Современные препараты из лекарственных растений: Справочник. – М.: ООО «Издательство Астrelъ»; ООО «Издательство АСТ», 2003. – 319 с.
- Патент 76000 Україна, МПК A61K 36/185; A61P 37/04. Способ отримання рослинного екстракту, стимулюючого утворення інтерферону / М.М.Козловський, Л.В.Бензель, І.М.Лозінський та ін.; заявники і патентовласники Львівський НДІ епідеміології та гігієни, М.М.Козловський, Л.В.Бензель. – № 20040604691; заявл. 15.06.2004; опубл. 15.06.2006. – Бюл. № 6.
- Попова Н.В., Литвиненко В.И., Павлова И.А. и др. // Фармаком. – 2005. – № 2–3. – С. 145–151.
- Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae-Haloragaceae. – Л.: Наука, 1987. – С. 8–10.
- Федосеева Л.М. // Химия растительного сырья. – 2005. – № 3. – С. 43–50.
- Хворост О.П. // Фитотерапія. Часопис. – 2005. – № 1. – С. 48–51.

Надійшла до редакції 23.02.2010.

І.Л.Бензель, Р.Е.Дармограй, Л.В.Бензель

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АСКОРИНОВОЙ И СВОБОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ФИТОСУБСТАНЦИЯХ БАДАНА ТОЛСТОЛИСТНОГО

Ключевые слова: бадан толстолистный, фитосубстанции, аскорбиновая кислота, органические кислоты

Проведены качественный и количественный анализы содержания свободных органических кислот в лиофилизованных фитосубстанциях, полученных из сухих и свежих листьев бадана толстолистного. Установлено наличие 7 органических кислот: яблочной, лимонной, щавелевой, янтарной, винной, пироноградной и аскорбиновой. Определено количественное содержание аскорбиновой кислоты и суммы свободных органических кислот.

I.L.Benzel, R.E.Darmogray, L.V.Benzel

STUDY OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE CONTENT OF ASCORBIC ACID AND FREE ORGANIC ACIDS IN PHYTOSUBSTANCES FROM BERGENIA CRASSIFOLIA (L.) FRITSCH.

Key words: Bergenia crassifolia (L.) Fritsch., phytosubstances, ascorbic acid, organic acids

SUMMARY

Qualitative and quantitative content of free organic acids in frozen-dried phytosubstances from dried and green leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. have been investigated. 7 organic acids have been found: malic, citric, oxalic, succinic, tartaric, pyruvic and ascorbic. Qualitative contents of ascorbic acid and totality of free organic acids was determined.

ВИВЧЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ПЛОДІВ КОРІАНДРУ ТА КМИНУ, ЩО ЗРОСТАЮТЬ В ЕКОСИСТЕМІ ДОНБАСУ

Ключові слова: ефірні олії, коріандр, кмин, хромато-мас-спектрометрія

Коріандр посівний (*Coriandrum sativum L.*) — однорічна, а кмин звичайний (*Carum carvi L.*) — дворічна (інколи одно- або багаторічна) трав'янисті рослини з родини селерових (*Araliaceae*).

Коріандр походить з Південної Європи та Малої Азії. Як заносне та здичавіле зустрічається в Криму. Столові сорти культивуються в Україні як пряно-ароматичні та огородні рослини. Кмин розповсюджений у лісній та лісостеповій зонах України та в Криму. Обидві рослини культивуються як лікарські в Україні, зокрема у Полтавській, Сумській областях та АР Крим [3, 5].

Коріандр посівний виявляє спазмолітичні та антибактеріальні властивості, стимулює секрецію залоз шлунково-кишкового тракту та регенерацію ушкоджених тканин. Настій плодів застосовують для збудження апетиту та поліпшення травлення як жовчогінний засіб при захворюваннях печінки та для збільшення лактації у жінок, що годують. Плоди коріандру входять до складу протигеморойального, жовчогінного та послаблювального зборів. Їх також застосовують для поліпшення смаку та запаху ліків. Плоди кмину звичайного виявляють бактерицидну, спазмолітичну, знеболювальну, відхаркувальну, послаблювальну, жовчогінну та діуретичну дії. Його застосовують для поліпшення травлення, при атонічних закрепах, метеоризмі та хронічному холециститі [4, 6].

Хімічний склад рослин, що вивчаються, досить різноманітний. Так, за даними літератури [3, 4], плоди коріандру та кмину містять 0,7—1,4 % (за деякими даними до 7 %) та 3—7 % ефірної олії відповідно. Основними компонентами ефірних олій є ациклічні та моноциклічні монотерпеноїди, а саме ліналоол та гераніол (у плодах коріандру) та карвон, лімонен і карвакрол (у плодах кмину).

Але дані літератури щодо складу ефірних олій коріандру та кмину, зокрема кількісного вмісту основних компонентів, суперечливі. Тому ми поставили собі за мету дослідити компонентний склад ефірних олій дослідженнях рослин та встановити їх кількісний вміст для стандартизації сировини та препаратів на її основі.

М а т е р і а л и т а м е т о д и д о с л і д ж е н н я

Об'єктом дослідження було обрано плоди коріандру та кмину, що були заготовлені в Луганській області у серпні—вересні 2008 року від культивованих рослин.

Ефірну олію отримували з подрібнених плодів методом гідродистиляції [9]. Після висушування ефірної олії над безводним натрієм сульфатом протягом 12 год встановлено її вміст у перерахунку на вагові відсотки.

Якісний склад та кількісний вміст компонентів ефірних олій визначали за допомогою хромато-мас-спектрометричного методу. Дослідження проводили на газовому хроматографі марки «Hewlett-Packard 6890 GC» з мас-селективним детектором 5973N. Компоненти розділяли на кварцовій капілярній колонці фірми

«Hewlett-Packard» (HP 19091J-433 HP-5) завдовжки 60 м з внутрішнім діаметром 0,25 мм, обробленою поліетиленгліколем [1, 2]. Застосовували програмування температури колонки: початкова температура становила 60 °C, кінцева – 240 °C. Тривалість розгонки (від початкової до кінцевої ізотермічної ділянки температурної програми) становила 60 хв. Швидкість розгортки – 3°/1хв. Об’єм проби становив 0,3 мкл при коефіцієнті розділу потоку 1:15 та тиску на вході в колонку 40 кПа; газ-носій – гелій. Сканування проводили у діапазоні 38–300 а.о.м. Час запису – 0,5 с.

Одержані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару та шляхом пошуку у масспектральній бібліотеці баз даних «Flavor 2.L.» та «NIST 98 L.» [8].

Перед проведенням пошуку для кожного хроматографічного піку обчислювали усереднений мас-спектр, від якого віднімали спектр фону. Ідентифікацію сполук проводили при порівнянні одержаних мас-спектрів хроматографічного піку з мас-спектрами еталонних сполук з найбільшою вірогідністю ідентифікованих програмою розпізнавання на масиві спектрів бази даних. Мас-спектори відповідних хроматографічних піків були ідентифіковані шляхом порівняння з мас-спектрами еталонних сполук та обробки даних.

Кількісний вміст компонентів ефірної олії розраховували за відношенням площи піків компонентів до суми площ усіх піків на хроматограмі (метод нормалізації) [7].

Результати дослідження та їх обговорення

Вихід ефірної олії з плодів коріандру становив 1,7 %, а з плодів кмину – 1,4 %. Ефірні олії коріандру та кмину являють собою маслянисті рідини світло-жовтого кольору зі стійким приємним ароматним запахом і пекучим смаком.

Хроматограму ефірної олії подів коріандру представлено на рис. 1, а плодів кмину – на рис. 2.

Як видно з даних, наведених у таблиці, для ефірних олій коріандру та кмину характерна наявність трьох спільніх речовин, таких як мірцен, лімонен та ліналоол. У найбільшій кількості в ефірній олії плодів коріандру міститься ліналоол (78,06 %), γ-терпінен (4,22 %), геранілацетат (4,18 %), камфора (3,80 %) та гераніол (2,93 %). Для ефірної олії плодів кмину в найбільшій кількості характерна наявність 83,54 % карвону та 14,12 % лімонену.

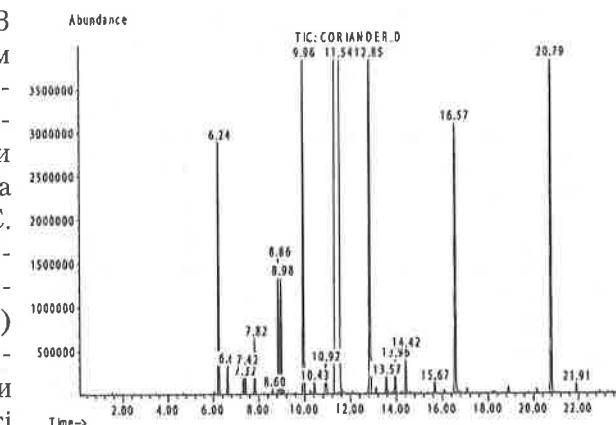


Рис. 1. Хроматограма ефірної олії плодів коріандру

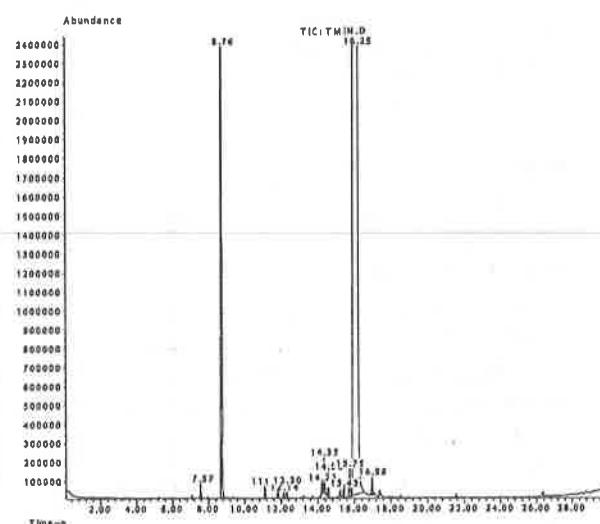


Рис. 2. Хроматограма ефірної олії плодів кмину

Кількісний вміст компонентів ефірних олій плодів коріандру та кмину

Назва сполуки	Індекс утримування	Вміст, %	
		у плодах коріандру	у плодах кмину
α-Пінен	6,23	1,91	—
Камfen	6,63	0,22	—
Сабінен	7,32	0,12	—
β-Пінен	7,42	0,22	—
Мірцен	7,82	0,43	0,12
α-Терпінен	8,60	0,04	—
n-Цимен	8,85	1,16	—
Лімонен	8,98	1,01	14,12
γ-Терпінен	9,96	4,22	—
Ліналоолоксид	10,42	0,11	—
Терпінолен	10,92	0,37	—
Ліналоол	11,54	78,06	0,12
транс-n-2,8-ментадієн-1-ол	11,80	—	0,13
цис-Лімоненоксид	12,14	—	0,06
цис-n-2,8-ментадієн-1-ол	12,30	—	0,15
Камфора	12,85	3,80	—
Борнеол	13,56	0,17	—
Терпінен-4-ол	13,95	0,33	—
Метилхавікол	14,22	—	0,17
транс-Дигідрокарвон	14,34	—	0,40
α-Теришінеол	14,41	0,42	—
цис-Дигідрокарвон	14,57	—	0,30
транс-Карвеол	15,43	—	0,15
Цитронелол	15,66	0,11	—
цис-Дигідрокарвеол	15,75	—	0,47
Карвон	16,24	—	83,54
Гераніол	16,57	2,93	—
Перилловий альдегід	16,98	—	0,23
Геранілацетат	20,78	4,18	—
β-Каріофілен	21,90	0,10	—

Висновки

- Хромато-мас-спектрометричним методом проведено дослідження якісного складу та кількісного вмісту компонентів ефірних олій плодів коріандру та кмину, що зростають в екосистемі Донбасу.
- Визначено наявність 20 та 13 сполук терпенової природи у плодах коріандру та кмину відповідно, серед яких у найбільшій кількості містяться ліналоол, γ-терпінен, геранілацетат, камфора та гераніол (у плодах коріандру) та карвон і лімонен (у плодах кмину).

- Доля В.С., Мозуль В.І., Яковлева О.С. // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 4. – С. 15–18.
- Кисличенко О.А., Ковалев А.М., Комісаренко А.М., Комісаренко С.М. // Вісник фармації. – 2007. – № 3(51). – С. 18–20.
- Коршиков Б.М., Макарова Г.В., Налетъко Н.Л. и др. Лекарственные свойства сельскохозяйственных растений / Под ред. М.И.Борисова, С.Я.Соколова. – 2-е изд., перераб. и доп. – Мн.: Ураджай, 1985. – 272 с.
- Къосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.:ЭКСМО-Пресс, 2000. – 992 с.
- Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М.Гродзинський. – К.: Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М.П.Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. – 544 с.
- Системная фитотерапия: Учеб. пособие для студентов вузов / Под ред. В.С.Кисличенко, А.В.Зайченко, И.А.Журавель. – Х.: Золотые страницы, 2008. – 256 с.

7. Davides N.W. // J. Chromatogr. – 1990. – Vol. 503. – P. 1–24.
8. Kyslichenko A.A., Dyakonova Ya.V., Alexandrov A.N., Darmogray R.Ye. // Herba Polonica. – 2008. – Vol. 54, № 4. – P. 62–67.
9. The British Pharmacopeia – 1993. – Vol. 2, ah XVI B.A.P. – P. 184–190.

Надійшла до редакції 28.05.2009.

И.И.Тернинко

ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ПЛОДОВ КОРИАНДРА И ТМИНА, КОТОРЫЕ ПРОИЗРАСТАЮТ В ЭКОСИСТЕМЕ ДОНБАСА

Ключевые слова: эфирные масла, кориандр, тмин, хромато-масс-спектрометрия

Из плодов *Coriandrum sativum* L. и *Carum carvi* L. методом гидродистилляции были получены эфирные масла, выход которых составил 1,7 % для плодов кориандра и 1,4 % для плодов тмина. Качественный состав эфирных масел определяли при помощи хромато-масс-спектрометрического метода на газовом хроматографе марки «Hewlett-Packard 6890GC» с масс-селективным детектором 5973N. В результате эксперимента было идентифицировано 20 и 13 компонентов эфирных масел кориандра и тмина соответственно и установлен их количественный состав.

I.I.Terninko

STUDY OF COMPOUNDS OF THE ESSENTIAL OILS FROM CORIANDRUM SATIVUM AND CARUM CARVI FRUTS, GROWING IN ECOSYSTEM OF DONBASS

Key words: essential oils, *Coriandrum sativum*, *Carum carvi*, chromato-mass-spectrometric analysis

SUMMARY

The essential oils were obtained from *Coriandrum sativum* L. and *Carum carvi* L. fruts by method of hydrodistillation. The quantitative content of the essetial oils was 1,7 % in *Coriandrum sativum* L. fruts and 1,4 % in *Carum carvi* L. fruts. The chemical composition was determined by chromato-mass-spectrometric analysis, performed on Hewlett-Packard 6890GC gas chromatography with mass-selective detector 5973N. In the result of this investigation were revealed 20 and 13 individual compounds in *Coriandrum sativum* L. and *Carum carvi* L. fruts and were considerabled quantity them.

УДК 615.9:615.07:615.212.7:54-438

В.В.БОЛОТОВ, д-р хім. наук, проф., П.О.БЕЗУГЛИЙ, д-р фармац. наук, проф., О.О.МАМИНА, д-р фармац. наук, проф., Н.В.ГАРНАЯ, канд. фармац. наук, доц., О.С.ГОЛОВЧЕНКО, асистент

Національний фармацевтичний університет України

СКРИНІНГ СЕЧІ НА НАЯВНІСТЬ РЕЧОВИН ОСНОВНОГО ХАРАКТЕРУ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ТИМОЛОВОГО СИНЬОГО

Ключові слова: скринінг, речовини основного характеру, тимоловий синій, сеча, тонкошарова хроматографія

Актуальним завданням сучасних хіміко-токсикологічних досліджень є розробка різноманітних скринінгових методик та їх удосконалення. Одним із перспективних напрямів скринінгових досліджень при проведенні аналізу біологічних об'єктів є використання сполучення хроматографічних та спектральних методів, що надає можливість отримувати об'єктивні результати аналізу [3,4,6].

Тонкошарова хроматографія (ТШХ) є найбільш поширеним у хіміко-токсикологічному аналізі методом, тому що характеризується високою чутливістю, © Колектив авторів, 2010

широкими можливостями при визначенні хімічних сполук різних класів, відносною простотою та доступністю техніки експерименту [2, 8, 9].

Але варіанти ТШХ-скринінгу мають недоліки, тому що розроблені для обмеженого кола отрут та вибрані реагенти не дають можливості перекривати при виявленні всі групи досліджуваних речовин. Тому застосування розділення речовин на групи залежно від їх здатності за розроблених умов утворювати іонні асоціати з індикаторами або не утворювати їх як етап скринінгу у сполученні з ТШХ-методом надає можливість підвищити селективність досліджень.

Метою представленої роботи є розробка скринінгу біологічного об'єкта (сечі) на наявність речовин основного характеру при застосуванні тимолового синього з подальшим аналізом іонних асоціатів ТШХ-методом.

Для вивчення впливу ряду факторів (рН середовища, наявність та розташування замісників у молекулах речовин та індикаторів) на утворення та екстрагування іонних асоціатів речовин основного характеру нами були застосовані 0,01 % водні та хлороформні розчини отрут, похідних п-амінобензойної кислоти (бензокайну), ароматичних амінів (ксикаїну, тримекаїну) та складних ефірів арилаліфатичних кислот (метацину, спазмолітину), які широко застосовуються в медичній практиці та мають токсичні ефекти, що зумовлює актуальність їх хіміко-токсикологічного аналізу [5–7].

Попередньо нами були проведені відповідні дослідження алкалоїдів (кодейну фосфату, морфіну гідрохлориду, атропіну сульфату, скополаміну гідроброміду, ко-каїну гідрохлориду, хініну гідрохлориду, ефедрину гідрохлориду, анабазину гідрохлориду, пахікарпіну гідройодиду), а також похідних фенотіазину (хлорпромазину гідрохлориду) та п-амінобензойної кислоти (прокайну гідрохлориду) [1, 10].

Для скринінгових досліджень нами були вибрані кислотні сульфофталеїнові барвники [1, 10]: бромтимоловий синій (БТС), бромфеноловий синій (БФС), бромкрезоловий пурпурний (БКП) та тимоловий синій (ТС), які використовують для розділення сумішей, ідентифікації та кількісного визначення як лікарських речовин, так і речовин у витяжках з біологічного матеріалу.

Дослідження проводили за такою методикою [1, 10]: в ділильні лійки послідовно вносили по 5 мл буферного розчину з рН 2,0–12,0; 1 мл 0,01% водного розчину речовини (в 1 мл розчину – 25,0–100,0 мкг речовини); 1 мл 0,04% розчину сульфофталеїнового індикатора та 5 мл хлороформу. Суміш струшували на механічному струшувачі АВУ-6с, частота – 120 стр./хв протягом 2–3 хв, залишали на 3–5 хв для розділення фаз та відокремлювали хлороформний шар.

Оптичну густину отриманого хлороформного екстракту вимірювали на фотоелектроколориметрі КФК-2 у ділянці 400–440 нм, у кюветі з шаром рідини завтовшки 5 мм. Як розчин порівняння застосовували холостий дослід.

Встановлено, що всі хлороформні екстракти мають жовте забарвлення та максимум поглинання при 405–520 нм, що відповідає поглинанню однозарядно-аніонної форми барвників, дисоційованих за сульфогрупою. При рН 2,0–3,0 спостерігається незначна екстракція БКП, БТС, БФС та ТС хлороформом, що зумовлює необхідність використання холостого досліду (рис. 1–5).

Екстрагованість іонних асоціатів залежить від рН середовища та гідрофобності катіона й аніона. Гідрофобність або гідрофільність індикаторів та речовин залежить від наявності та просторового розташування замісників в молекулах. Так, наявність гідрофобних груп (-CH₃, -C₃H₇, -Cl, -Br, -J) веде до зростання екстракції аналізованих речовин, наявність гідрофільних груп – фенольного та спиртового гідроксилу, сульфогруп та інших полярних груп (-COOH, -NH₂) різко зменшує здатність до утворювання стійких іонних асоціатів.

Установлено, що індикатор БТС порівняно з іншими барвниками є найбільш гідрофобним, що зумовлює його чутливість до отрут основного характеру та найменшу вибірковість, тобто нівелюючу дією у широкому діапазоні значень рН,

тому БТС використовують для Діаграма

найбільш повної екстракції індивідуальних отрут для їх кількісного визначення.

Гідрофільні властивості ТС зумовлюють його диференціюальну дію, тобто його здатність утворювати іонні асоціати у вузькому інтервалі значень pH 3,0–6,0, що застосовується для вибіркової екстракції отрут у вигляді іонних асоціатів при скринінгових дослідженнях (рис. 1–5).

Для розробки скринінгу отрут основного характеру нами була вивчена екстрагованість іонних асоціатів аналізованих отрут з тимоловим синім залежно від pH середовища за розробленими умовами (діаграма).

Згідно з проведеними раніше дослідженнями для підвищення вибірковості методики було вибрано значення pH 6,0, яке на першому етапі скринінгу давало можливість розділити всі досліджувані отрути, включаючи алкалоїди і похідні фенотіазину та п-амінобензойної кислоти, на дві групи: утворювальні іонні асоціати при pH 6,0 (кодейн, фентаніл, хінін, пахікарпін, атропін, прокайн, хлорпромазин) та неутворювальні іонні асоціати (морфін, ефедрін, скополамін, кокаїн, анабазин) [1, 10].

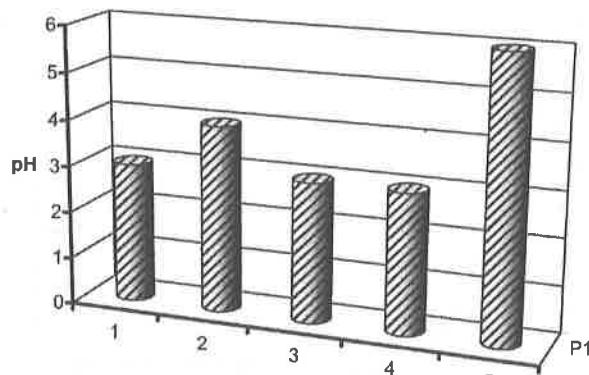
Дані, наведені на діаграмі, свідчать, що бензокайн, ксикалін, тримекайн, метацин та спазмолітин утворюють іонні асоціати у діапазоні значень pH 3,0–6,0, що дає можливість виділити їх в окрему підгрупу.

Другий етап скринінгу полягав у хроматографуванні отриманих іонних асоціатів з використанням методу ТШХ за такою методикою: 1 мл забарвлених у жовтий колір хлороформного екстракту упарювали на водяній бані до об'єму 0,2–0,4 мл та наносили на хроматографічну пластинку на скляній основі. Хроматографування виконували в системі органічних розчинників хлороформ—метанол (9:1); речовини проявляли реактивом Драгендорфа в модифікації за Мунье [1, 10].

Для підвищення точності хроматографічного аналізу іонних асоціатів застосовували величину Rs , яка дорівнювала відношенню Rf отрути до Rf тимолового синього ($0,28 \pm 0,02$ внутрішнього стандарту).

При аналізі суміші отрут основного характеру виявлено, що у хлороформний шар при екстракції іонних асоціатів з тимоловим синім при pH 6,0 можуть переходити основи отрут, які не утворюють іонні асоціати. У результаті на хроматограмах виявлено декілька плям оранжевого кольору. Враховуючи об'єктивність та надійність значень Rs речовин при ідентифікації отрут, ми визначили ці параметри для досліджуваних речовин (таблиця).

Значення Rf та Rs отрут основного характеру при ТШХ-аналізі іонних асоціатів з тимоловим синім за розробленими умовами



Отрути основного характеру: 1 – бензокайн, 2 – ксикалін, 3 – тримекайн, 4 – метацин, 5 – спазмолітин

Речовина	Rf речовини	Rs речовини
Бензокайн	0,51±0,02	1,32
Ксикалін	0,35±0,02	1,25
Тримекайн	0,41±0,03	1,46
Метацин	0,29±0,03	1,04
Спазмолітин	0,32±0,02	1,14

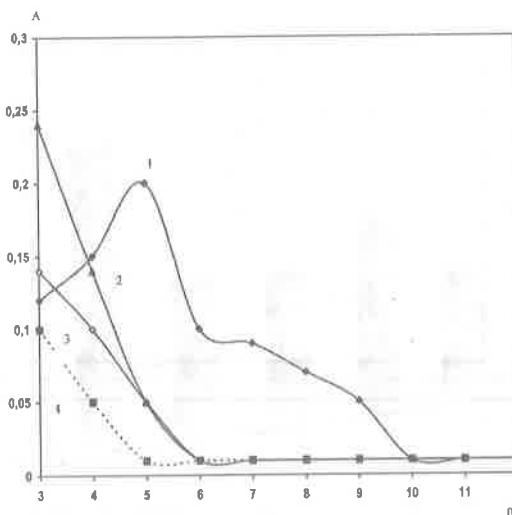


Рис. 1. Залежність оптичної густини забарвлених розчинів, які містили іонні асоціати бензокайну із сульфофталейновими індикаторами, від pH середовища:

1 – БТС, 2 – БФС, 3 – БКП, 4 – ТС

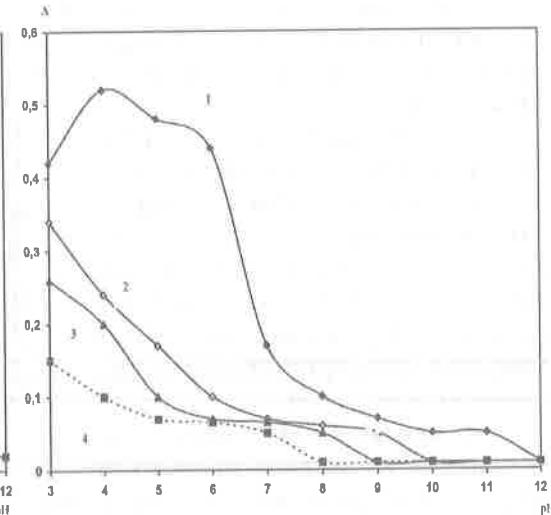


Рис. 2. Залежність оптичної густини забарвлених розчинів, які містили іонні асоціати ксикаїну із сульфофталейновими індикаторами, від pH середовища:

1 – БТС, 2 – БФС, 3 – БКП, 4 – ТС

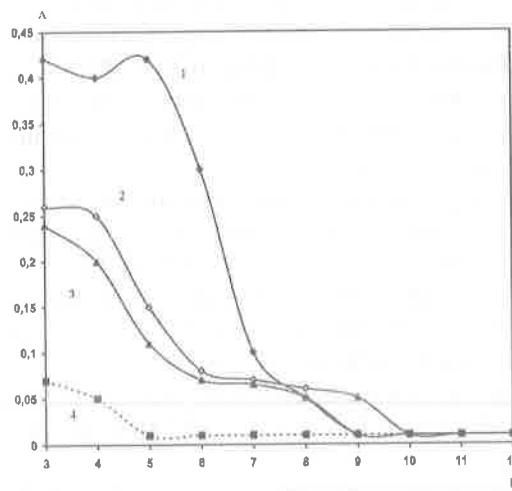


Рис. 3. Залежність оптичної густини забарвлених розчинів, які містили іонні асоціати тримекайну із сульфофталейновими індикаторами, від pH середовища:

1 – БТС, 2 – БФС, 3 – БКП, 4 – ТС

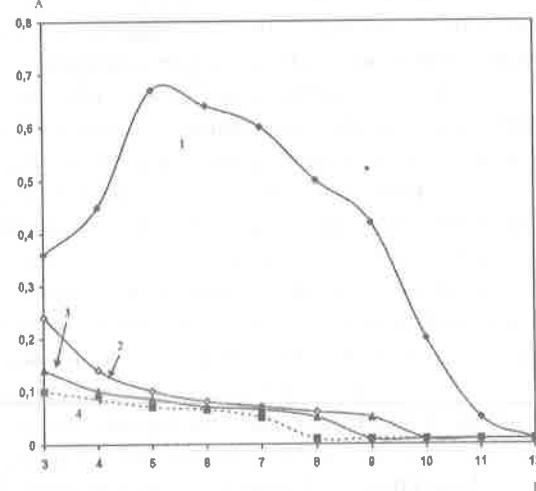


Рис. 4. Залежність оптичної густини забарвлених розчинів, які містили іонні асоціати метаціну із сульфофталейновими індикаторами, від pH середовища:

1 – БТС, 2 – БФС, 3 – БКП, 4 – ТС

Розроблені методики апробовані при дослідженні модельних сумішей сечі (20 мл), які містили по 0,5 мг речовин. Екстракцію та очищення отрут проводили за методикою для речовин основного характеру: з об'єднаної хлороформної витяжки реекстрагували речовини 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої — двічі по 10 мл, хлороформний шар не досліджували, а водний після підлагування 25 % розчином аміаку до pH 9,0–10,0 екстрагували хлороформом — двічі по 10 мл.

Органічну фазу упарювали на водяній бані та сухий залишок розчиняли в 5 мл хлороформу. 1 мл хлороформної витяжки застосовували для утворення іонних асоціатів за розробленими умовами, які досліджували методом ТШХ.

Результати, отримані при скринінгу сечі та при аналізі модельних розчинів на наявність досліджуваних речовин основного характеру, порівнянні, що свідчить про надійність та відтворюваність розроблених методик.

Висновки

1. Вивчено вплив pH середовища на здатність утворювати іонні асоціати досліджуваних отрут основного характеру із сульфофталейновими барвниками.

2. Запропоновано використання здатності до утворювання досліджуваними речовинами іонних асоціатів з кислотним індикатором — тимоловим синім у розроблених умовах як критерію для їх розділення на групи.

3. Розроблено варіант ТШХ-скринінгу іонних асоціатів з тимоловим синім для бензокайну, ксикаїну, тримекайну, метацину та спазмолітину.

4. На основі проведених досліджень запропоновано скринінг сечі на досліджувані отрути основного характеру.

1. Горбачева Н.А., Орлова А.М. // Судебно-мед. экспертиза. — 2003. — № 3. — С. 34–38.
2. Коваленко А.Е., Кардонський Д.А., Еганов А.А. и др. // Там же. — 2007. — № 2. — С. 28–32.
3. Маміна Е.А. // Вестник проблем біології і медицини. — 1997. — № 14. — С. 33–38.
4. Kolmonen M., Leinonen A., Pelander A., Ojanpera I. // Anal. Chim. Acta. — 2007. — Vol. 585, № 1. — P. 94–102.
5. Musshoff F., Padosch S., Steinborn S. et al. // Forensic. Sci. Internation. — 2004. — Vol. 142, № 2–3. — P. 161–210.
6. Gunnar T., Ariniemi K., Lillsunde P. // J. Mass Spectrom. — 2005. — Vol. 40, № 6. — P. 739–753.
7. Randall C. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man / Chemical Toxicology Institute.— Foster City, 2000.— 918 p.
8. Siek T.J., Stradling C.W., McCain M.W. // Clin. Chem. — 1997. — Vol. 43, № 4. — P. 619–626.
9. Sullivan C., Sherma J. // J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol. — 2004. — Vol. 27, № 13. — P. 1993–2002.
10. Bezugly P.O., Bolotov V.V., Mamina O.O., Buryan G.O., Leonova S.G., Kolisnyk O.V., Kovalska O.V. // Nauka and studia. — Przemysl, Poland, 2009. — Vol. 21, № 9. — P. 89–97.

Надійшла до редакції 18.01.2010.

В.В.Болотов, П.А.Безуглий, Е.А.Маміна, Н.В.Гарная, О.С.Головченко

СКРИНИНГ МОЧИ НА НАЛИЧИЕ ВЕЩЕСТВ ОСНОВНОГО ХАРАКТЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТИМОЛОВОГО СИНЕГО

Ключевые слова: скрининг, вещества основного характера, тимоловый синий, моча, тонкослойная хроматография

В результате систематических исследований разработан скрининг для проведения анализа биологических объектов (мочи) на наличие веществ основного характера при использовании метода тонкослойной хроматографии для анализа ионных ассоциатов веществ с тимоловым синим.

V.V.Bolotov, P.O.Bezugly, O.O.Mamina, N.V.Garnaya, O.S.Golovchenko

SCREENING OF URINE ON PRESENCE OF SUBSTANCES OF BASIC CHARACTER WITH USING THYMOL BLUE

Key words: screening, substances of basic character, thymol blue, urine, Thin-layer Chromatography

SUMMARY

In the results the systematic investigation screening for conducting investigation of biologic object (urine) on presence of substances of basic character with using Thin-layer Chromatography — method for analysis of ion-associates of substances with thymol blue has been worked out.

