



№ 3
(10)
2012

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики

Науково-практичний журнал

Видається з квітня 1997 року.

Виходить один раз на 4 місяці

Засновник та видавець
Запорізький державний
медичний університет

Свідоцтво про реєстрацію
КВ №16317-4789Р від 16.12.2009 р.

АТЕСТОВАНИЙ ВАК України
в галузі фармацевтичних
та медичних наук –

постанова Президії ВАК України
від 6.10.2010 р. №1–05/6

Адреса видавця та редакції:
69035, Україна, м. Запоріжжя,
пр-т Маяковського, 26, ЗДМУ,
редакційно-видавничий відділ,
тел.: (061) 233-02-34
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua

Рекомендовано до друку
Вченою радою ЗДМУ,
протокол №3 від 23.10.2012 р.
Підписано до друку 30.10.2012 р.

Віддруковано в типографії
ТОВ «БЕСТ-ПРИНТ»
69057, м. Запоріжжя,
вул. Рекордна, б. 20
тел. (061) 701-32-60
Свідоцтво

про державну реєстрацію
АО1 №020818 від 13.02.2008 р.
Тираж 200 прим.
Замовлення № 10/12

Статті, що надходять до редакції,
рецензуються.

Електронні копії опублікованих статей
передаються до Національної бібліотеки
ім. Вернадського для вільного доступу
в режимі on-Line.

Реферати статей публікуються в
«Українському реферативному журналі»,
серія «Медицина».

•Відповідальність за достовірність
наведених у публікаціях фактів,
дат, назв, імен, прізвищ, цифрових
даних несуть автори статей.

•При передруці матеріалів
посилання на «Актуальні питання
фармацевтичної і медичної науки
та практики» обов'язкове.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

- МАЗУР І.А.** – головний редактор –
доктор фармацевтичних наук, професор.
ВОЛОШИН М.А. – заступник головного редактора –
доктор медичних наук, професор.
КОВАЛЕНКО С.І. – заступник головного редактора –
доктор фармацевтичних наук, професор.
ВОСКОВОЙНИК О.Ю. – відповідальний секретар –
кандидат фармацевтичних наук.
АВРАМЕНКО М.О. – кандидат фармацевтичних наук, доцент.
БАРКОВСЬКИЙ Д.С. – доктор медичних наук, доцент.
БСЛЕНІЧЕВ І.Ф. – доктор біологічних наук, професор.
БЕРЕЗІН О.Є. – доктор медичних наук, доцент.
ВАСЮК С.О. – доктор фармацевтичних наук, професор.
ВІЗІР В.А. – доктор медичних наук, професор.
ГЛАДИШЕВ В.В. – доктор фармацевтичних наук, професор.
КАМИШНИЙ О.М. – доктор медичних наук, доцент.
КОЛЕСНИК Ю.М. – доктор медичних наук, професор.
КРЕМЗЕР О.А. – кандидат фармацевтичних наук, доцент.
РИЖОВ О.А. – доктор фармацевтичних наук, доцент.
ПАНАСЕНКО О.І. – доктор фармацевтичних наук, професор.
ПЕРЦОВ В.І. – доктор медичних наук, професор.
СИВОЛАП В.Д. – доктор медичних наук, професор.
ТУМАНСЬКИЙ В.О. – доктор медичних наук, професор.

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

- БАЧУРІН В.І.** – доктор медичних наук, професор.
БОЧАРОВ В.А. – доктор медичних наук, професор.
БОЯРСЬКА Л.М. – кандидат медичних наук, професор.
ГЕОРГІЄВСЬКИЙ В.П. – член-кор. НАН України,
доктор фармацевтичних наук, професор.
ЗІМЕНКІВСЬКИЙ Б.С. – академік ВШ України,
доктор фармацевтичних наук, професор.
МАЙОРОВ О.Ю. – доктор медичних наук, професор.
НИКОНЕНКО О.С. – член-кор. НАН України,
доктор медичних наук, професор.
РЯБОКОНЬ О.В. – доктор медичних наук, професор.
ЧЕРНИХ В.П. – член-кор. НАН України,
доктор хімічних наук, доктор фармацевтичних наук, професор.
ЦУРКАН О.О. – доктор фармацевтичних наук, професор.

РЕДАКЦІЯ:

- ГОЦУЛЯ Р.О.** – начальник редакційно-видавничого відділу,
САВЕЛЕНКО О.С. – літературний редактор,
ЧУМАКОВА О.І. – дизайн і верстка.

© Запорізький державний медичний університет, 2012



№ 3
(10)
2012

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики

Науково-практичний журнал

Видається з квітня 1997 року.

Виходить один раз на 4 місяці

Засновник та видавець
Запорізький державний
медичний університет

Свідоцтво про реєстрацію
КВ №16317-4789Р від 16.12.2009 р.

АТЕСТОВАНИЙ ВАК України
в галузі фармацевтичних
та медичних наук –

постанова Президії ВАК України
від 6.10.2010 р. №1–05/6

Адреса видавця та редакції:
69035, Україна, м. Запоріжжя,
пр-т Маяковського, 26, ЗДМУ,
редакційно-видавничий відділ,
тел.: (061) 233-02-34
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua

Рекомендовано до друку
Вченою радою ЗДМУ,
протокол №3 від 23.10.2012 р.
Підписано до друку 30.10.2012 р.

Віддруковано в типографії
ТОВ «БЕСТ-ПРИНТ»
69057, м. Запоріжжя,
вул. Рекордна, б. 20
тел. (061) 701-32-60
Свідоцтво

про державну реєстрацію
АО1 №020818 від 13.02.2008 р.
Тираж 200 прим.
Замовлення № 10/12

Статті, що надходять до редакції,
рецензуються.

Електронні копії опублікованих статей
передаються до Національної бібліотеки
ім. Вернадського для вільного доступу
в режимі on-Line.

Реферати статей публікуються в
«Українському реферативному журналі»,
серія «Медицина».

• Відповідальність за достовірність
наведених у публікаціях фактів,
дат, назв, імен, прізвищ, цифрових
даних несуть автори статей.

• При передруці матеріалів
посилання на «Актуальні питання
фармацевтичної і медичної науки
та практики» обов'язкове.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

- МАЗУР І.А.** – головний редактор –
доктор фармацевтичних наук, професор.
ВОЛОШИН М.А. – заступник головного редактора –
доктор медичних наук, професор.
КОВАЛЕНКО С.І. – заступник головного редактора –
доктор фармацевтичних наук, професор.
ВОСКОВОЙНИК О.Ю. – відповідальний секретар –
кандидат фармацевтичних наук.
АВРАМЕНКО М.О. – кандидат фармацевтичних наук, доцент.
БАРКОВСЬКИЙ Д.С. – доктор медичних наук, доцент.
БСЛЕНІЧЕВ І.Ф. – доктор біологічних наук, професор.
БЕРЕЗІН О.Є. – доктор медичних наук, доцент.
ВАСЮК С.О. – доктор фармацевтичних наук, професор.
ВІЗІР В.А. – доктор медичних наук, професор.
ГЛАДИШЕВ В.В. – доктор фармацевтичних наук, професор.
КАМИШНИЙ О.М. – доктор медичних наук, доцент.
КОЛЕСНИК Ю.М. – доктор медичних наук, професор.
КРЕМЗЕР О.А. – кандидат фармацевтичних наук, доцент.
РИЖОВ О.А. – доктор фармацевтичних наук, доцент.
ПАНАСЕНКО О.І. – доктор фармацевтичних наук, професор.
ПЕРЦОВ В.І. – доктор медичних наук, професор.
СИВОЛАП В.Д. – доктор медичних наук, професор.
ТУМАНСЬКИЙ В.О. – доктор медичних наук, професор.

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

- БАЧУРІН В.І.** – доктор медичних наук, професор.
БОЧАРОВ В.А. – доктор медичних наук, професор.
БОЯРСЬКА Л.М. – кандидат медичних наук, професор.
ГЕОРГІЄВСЬКИЙ В.П. – член-кор. НАН України,
доктор фармацевтичних наук, професор.
ЗІМЕНКІВСЬКИЙ Б.С. – академік ВШ України,
доктор фармацевтичних наук, професор.
МАЙОРОВ О.Ю. – доктор медичних наук, професор.
НИКОНЕНКО О.С. – член-кор. НАН України,
доктор медичних наук, професор.
РЯБОКОНЬ О.В. – доктор медичних наук, професор.
ЧЕРНИХ В.П. – член-кор. НАН України,
доктор хімічних наук, доктор фармацевтичних наук, професор.
ЦУРКАН О.О. – доктор фармацевтичних наук, професор.

РЕДАКЦІЯ:

- ГОЦУЛЯ Р.О.** – начальник редакційно-видавничого відділу,
САВЕЛЕНКО О.С. – літературний редактор,
ЧУМАКОВА О.І. – дизайн і верстка.

© Запорізький державний медичний університет, 2012



**Фармакогнозія
та хімія
природних
сполук**

М.В. Ісюк, І.Л. Бензель, Л.В. Бензель	
Дослідження амінокислотного складу герані сибірської.....	4
А.М. Ковальова, І.В. Грудько	
Порівняльна характеристика видів підроду <i>Eumelilotus</i> роду <i>Melilotus</i> Mill. за компонентним складом ефірних олій і морфологічною будовою.....	7
О.М. Кошовий	
Фенольний склад деяких представників підроду <i>Sclarea</i> роду <i>Salvia</i>.....	11
Е.А. Красных, В.И. Мозуль, В.С. Доля, Е.Н. Очкасова	
Изучение химического состава и антибактериальной активности эфирного масла <i>Cupressus sempervirens</i> L.....	15
С.В. Панченко, С.Н. Соленникова, Т.А. Горохова, Д.С. Круглов, В.Г. Корниевская, Ю.И. Корниевский, Н.С. Фурса	
Масс-спектрометрическое определение химических элементов в корневищах с корнями четырех видов <i>Valeriana officinalis</i> L. s. l.....	19
Н.С. Фізоп, К.В. Тарасова	
Вивчення цілющих властивостей вітчизняних лікувальних грязей і перспективи створення нових лікарських форм на їх основі.....	23
Т.В. Хортецька, О.В. Мазулін, Г.П. Смойловська, Г.В. Мазулін	
Вивчення вмісту вітаміну К у листі перспективних видів роду <i>Plantago</i> L. флори України у вегетаційний період.....	26



**Експериментальна
та клінічна
фармакологія**

Д.М. Юрченко, К.В. Александрова, І.М. Білай, Є.С. Пругло, М.І. Романенко	
Вивчення діуретичної активності естерів ксантиніл-7-ацетатних І ксантиніл-8-тіоацетатних кислот.....	29



**Синтез та аналіз
біологічно
активних сполук**

Д.Я. Гаврилюк, С.В. Хирков, В.В. Атаманюк, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик	
Синтез і протівірусна активність неконденсованих систем з тіазолідиновим, піразоліновим та ізатинівим фрагментами у молекулах.....	32
В.І. Гусаров, С.М. Коваленко, О.В. Заремба, Т.Д. Гусарова	
Препаративна очистка синтетичних кумаринів, що містять залишок холевої кислоти.....	42
Н.М. Дармограй, І.Й. Галькевич	
Розробка умов ізолювання міртазапіну з біологічного матеріалу.....	46
М.В. Дячков, О.С. Шкода, К.В. Александрова, С.В. Левіч	
Синтез і фізико-хімічні властивості 7-заміщених 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів	49
М.І. Романенко, О.О. Мартинюк, С.О. Васюк, А.С. Коржова, Б.А. Самура, А.В. Таран	
Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості солей N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти.....	53
В.О. Саліонов, В.П. Буряк, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш	
Електронні спектри вбирання та дослідження тіон-тіольної таутомерії похідних 4-г-3-(тіофен-2-іл)-1н-1,2,4-тріазол-5(4н)-тіону.....	57
Т.І. Чабан, В.В. Огурцов, І.Г. Чабан, О.В. Кленіна, Х.Б. Гриневич	
Синтез і вивчення антиоксидантної активності нових тіазоло[4,5-в]піридинів.....	61
О.Ю. Черчесова, М.І. Романенко, О.О. Мартинюк, Д.Г. Іванченко, К.В. Александрова, А.С. Коржова	
Синтез і фізико-хімічні властивості похідних 2,3-дигідро-1,3-оксазол[2,3-ф]ксантину.....	66



**Технологія
виробництва
ліків**

Алмохамад Жумаа Абдуллах, Б.С. Бурлака, С.А. Гладышева, Д.М. Романина Изучение влияния температурного фактора на структурно-механические свойства суппозиторий с каптоприлом	72
К.О. Дегтярьова, О.І. Тихонов Термографічне дослідження фенольного гідрофобного препарату прополісу і жовчі великої рогатої худоби для подальшого створення комплексного препарату у формі таблеток	76
С.М. Коваленко, І.І. Баранова Експериментальне дослідження з вибору гелеутворювача при розробці засобу для лікування діабетичних виразок	80
Г.П. Кухтенко, О.О. Ляпунова, О.А. Лисокобилка Вивчення структурно-механічних властивостей крему на основі емульсії і роду	83
О.І. Тихонов, О.О. Ковальова Дослідження стабільності препарату «Антисепт-Апі» у процесі зберігання	88
В.А. Шевченко, В.С. Бондарь, Т.Д. Губченко Некоторые аспекты фармацевтической разработки парентерального лекарственного средства «Милдрокард»	91



**Фармацевтичний
менеджмент
і маркетинг**

Т.С. Британова, А.В. Самко Товарознавча характеристика мінеральних вод України	94
Н.І. Коваль, І.М. Кліщ Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів, що містять пірацетам, представлених на українському та російському фармацевтичних ринках	99



**Практична
медицина**

Е.А. Дядык, М.А. Шишкин Морфологические особенности ишемического инфаркта мозга, развившегося у больных в условиях перитонита	102
---	-----



**Питання
фармацевтичної
освіти**

Л.О. Горяча, Т.С. Прокопенко Використання модульно-рейтингової системи побудови навчального процесу при вивченні дисципліни «Організація і економіка фармації»	104
В.М. Одинцова Роль практичних навичок при вивченні фармакогнозії	107



М.В. Ісюк, І.Л. Бензель, Л.В. Бензель

Дослідження амінокислотного складу герані сибірської

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Ключові слова: герань сибірська, амінокислоти, якісний склад, кількісний вміст.

Ключевые слова: герань сибирская, аминокислоты, качественный состав, количественное содержание.

Key words: *geranium sibiricum*, aminoacids, quality composition, quantitative content.

Здійснено дослідження амінокислотного складу герані сибірської західного регіону України. Встановлено наявність 29 вільних амінокислот, у тому числі 8 незамінних. Визначено кількісний вміст вільних амінокислот у різні фази вегетації рослини.

Проведено исследование аминокислотного состава герани сибирской западного региона Украины. Установлено наличие 29 свободных аминокислот, в том числе 8 незаменимых. Определено количественное содержание свободных аминокислот в разные фазы вегетации растения.

Amino acids composition of *Geranium sibiricum* has been investigated. The presence of twenty nine free amino acids has been revealed, including eight essential. Quantitative content of amino acids in different phases of plant vegetation has been determined.

Одним із найважливіших компонентів комплексу біологічно активних речовин рослин є амінокислоти. Вони містяться в надземних і підземних органах практично всіх квіткових рослин, синтезуються з простих неорганічних сполук і беруть участь у синтезі білків, коферментів, флавоноїдів, стероїдних сполук, поліфенолів, складних вуглеводів, жирів, вітамінів і пігментів. Амінокислоти відіграють важливу роль у функціонуванні різноманітних систем і органів людського організму та характеризуються вираженими фармакотерапевтичними властивостями. Деякі з них мають позитивний вплив на серцево-судинну систему, беруть участь у процесах нервової регуляції, підтримують судинний тонус. Зокрема, аргінін і глутамінова кислота характеризуються антиоксидантними, гепатопротекторними та мембраностабілізуючими властивостями. Аланін і гліцин регулюють рівень цукру в крові та беруть участь у регенерації тканин. Серин сприяє накопиченню глікогену в печінці та м'язах і впливає на обмін жирів [1,2]. З гістидину утворюється біогенний амін – гістамін, що є місцевим гормоном. Триптофан в організмі людини бере участь у синтезі вітаміну РР (ніацину), а також є попередником нейромедіатора серотоніну, що має значний вплив на емоційний стан особи, його нестача характерна для депресивних станів [3–5]. Лізин підсилює неспецифічну резистентність організму, впливає на тонус судин серця, знижує рівень холестерину в крові. Метіонін перешкоджає відкладенню залишку жиру в печінці, захищає її клітини від впливу токсичних речовин і бере участь у синтезі фосфатидилхоліну. Амінокислота цистин є природним антиоксидантом [6,7].

Сучасна фармацевтична промисловість виготовляє багато препаратів на основі амінокислот. До таких препаратів належать цитрагліцин, глутаргін, гептрал, метіонін, церебралізін, аміносол, гліцисед тощо [5].

Одними з потенційних джерел надходження амінокислот до людського організму є лікарські рослини та фітосаоби на їх основі. Однією з таких рослин є герань сибірська, що крім в'яжучих, кровоспинних і протизапальних властивостей виявляє виражену гепатопротекторну, противірусну та антимікробну дію [8–11].

Відомо, що умови зовнішнього середовища активно впливають на обмінні процеси рослини, тобто можуть суттєво змінювати біосинтез і накопичення в них тих чи інших генетично зумовлених хімічних сполук, на що вказують дослідження вмісту амінокислот у траві герані сибірської південного Уралу і центральної України [12,13]. Актуальним є також комплексне і раціональне використання рослинної сировини.

Мета роботи

Вивчити якісний склад і кількісний вміст амінокислот у надземних і підземних органах герані сибірської залежно від періоду вегетації та місця зростання рослини на території західного регіону України.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження були трава та корені герані сибірської (*Geranium sibiricum* L.), зібрані у Рівненській і Волинській областях у 2011 році у фази бутонізації, цвітіння та плодоношення і висушені до повітряно-сухого стану.

Наважку сухої подрібненої сировини розтирали у фарфорових ступках до порошкоподібного стану. Екстракцію амінокислот проводили в суміші хлороформу-вода у співвідношенні 1:1, при постійному струшуванні протягом 3 годин. Потім центрифугували 15 хвилин при 8000 об/хв. Водну фазу відбирали і проводили осадження білків сульфосаліциловою кислотою протягом 30 хвилин за температури 4°C, з подальшим центрифугуванням (15 хвилин при 8000 об/хв). Отримані супернатанти розводили 0,6 М літій-цитратним буфером (pH 2,1) і піддавали аналізу.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних амінокислот у досліджуваній сировині герані сибірської проводили методом іонообмінної хроматографії з допомогою амінокислотного аналізатора «BIOTRONIK LC 6001» (Німеччина). Як стандарт використовували «Amino Acid Calibration Standard» (Benson Company, USA). Цей метод дає абсолютні та точні (до 10 нмоль) значення вмісту амінокислот у досліджуваних об'єктах [14]. Визначення проводили в 5-разовій повторності з наступною статистичною обробкою отриманих результатів [15].

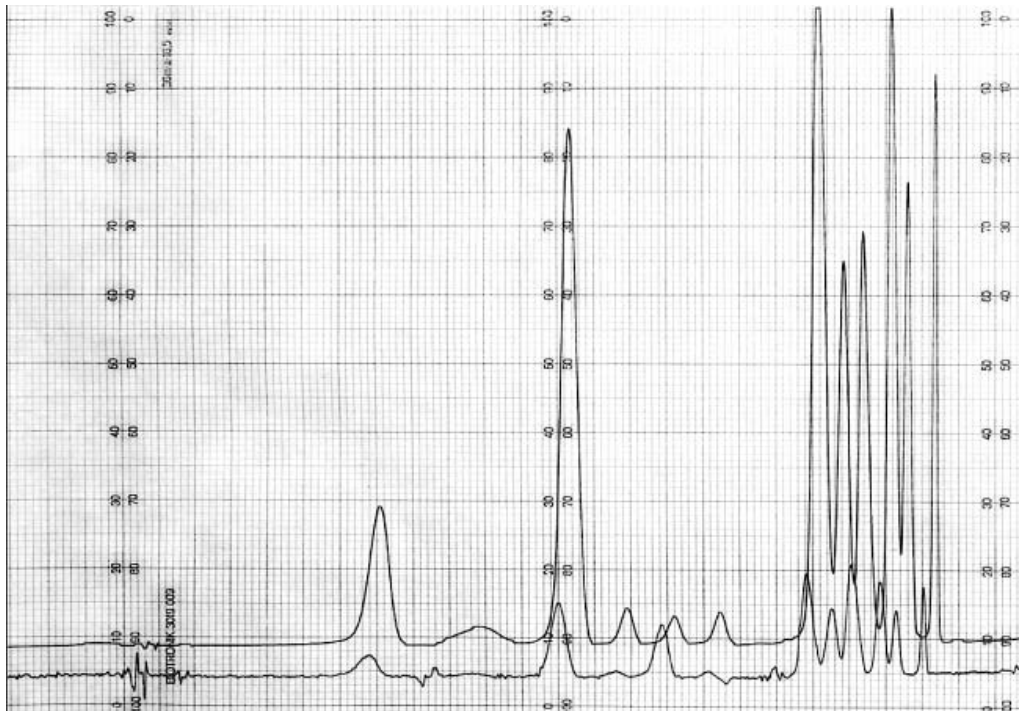


Рис. 1. Хроматограма амінокислотного аналізу герані сибірської.

Таблиця 1

Вміст вільних амінокислот у траві та коренях герані сибірської

Назва амінокислоти	Вміст вільних амінокислот, (M±m) мкмоль/г					
	ТГС-1	ТГС-2	ТГС-3	ТГС-4	КГС-1	КГС-4
Фосфосерин	0,798±0,032	0,723±0,017	0,873±0,016	0,462±0,023	0,739±0,054	0,827±0,098
Таурин	0,230±0,015	0,142±0,012	0,267±0,011	0,392±0,021	0,606±0,051	0,575±0,034
Фосфоетаноламін	0,363±0,023	0,169±0,019	0,285±0,013	0,366±0,047	0,433±0,014	0,271±0,009
(Гідр)Оксипролін	90,199±1,871	52,291±1,342	64,636±2,971	127,207±2,159	104,687±1,765	105,375±3,094
Треонін	0,051±0,008	1,249±0,027	1,496±0,014	2,146±0,009	0,745±0,011	3,116±0,021
Серин	1,968±0,019	3,006±0,054	2,968±0,054	4,707±0,034	1,942±0,010	5,012±0,247
Аспарагін	15,958±1,34	11,152±0,385	9,790±0,067	16,832±0,172	2,847±0,032	14,403±0,154
Глутамінова кислота	6,139±0,239	0,704±0,017	0,976±0,008	6,350±0,221	1,374±0,109	4,936±0,078
Глутамін	2,744±0,032	6,253±0,230	5,793±0,239	0,966±0,044	1,890±0,037	8,349±0,157
α-аміноадипінова кислота	0,471±0,012	0,313±0,012	0,294±0,011	0,137±0,005	0,131±0,003	0,436±0,008
Пролін	9,975±0,232	8,201±0,091	3,611±0,122	1,489±0,087	3,926±0,231	3,498±0,131
Гліцин	0,582±0,010	0,365±0,003	0,468±0,037	0,987±0,039	0,525±0,011	1,018±0,039
Аланін	4,636±0,231	2,579±0,017	3,288±0,114	8,016±0,171	2,830±0,107	6,924±0,327
Цитрулін	0	0	0,032±0,004	0,149±0,008	0	0,390±0,004
Валін	5,064±0,136	3,196±0,041	2,499±0,039	1,719±0,021	1,140±0,012	2,833±0,051
Цистин	0,151±0,005	0,120±0,005	0,025±0,003	0,129±0,004	0,022±0,001	0,141±0,007
Метіонін	0,024±0,002	0,077±0,003	0,046±0,002	0,140±0,007	0	0,092±0,002
Ізолейцин	1,828±0,045	1,323±0,009	0,937±0,026	0,878±0,014	0,335±0,007	1,364±0,071
Лейцин	1,291±0,022	0,999±0,011	0,826±0,013	1,121±0,019	0,332±0,011	1,242±0,033
Тирозин	4,260±0,071	1,133±0,018	1,361±0,065	0,313±0,005	0,577±0,048	0,706±0,009
Фенілаланін	2,259±0,019	1,487±0,021	1,107±0,061	0,361±0,011	0,596±0,021	1,765±0,014
β-аланін	0,164±0,009	0,141±0,004	0,072±0,004	0,231±0,004	0,029±0,002	0,082±0,003
ГАМК	5,809±0,026	4,650±0,027	4,794±0,031	7,243±0,189	4,787±0,131	5,339±0,211
Етаноламін	0,804±0,023	1,064±0,009	1,277±0,025	2,004±0,112	1,013±0,059	2,365±0,093
Орнітин	0,027±0,002	0,015±0,001	0,023±0,001	0,098±0,002	0,018±0,004	0,093±0,011
Лізин	0,939±0,008	0,717±0,012	0,995±0,008	1,529±0,047	0,282±0,007	1,762±0,034
Гістидин	0,507±0,011	0,341±0,008	0,434±0,011	0,888±0,013	0,168±0,009	0,689±0,004
Триптофан	2,513±0,022	1,620±0,042	1,894±0,067	0,630±0,022	1,352±0,019	2,436±0,032
Аргінін	0,738±0,006	0,321±0,013	0,441±0,021	11,081±0,507	0,314±0,007	2,103±0,048
Загальна кількість	160,492	104,351	111,508	198,571	133,64	178,142

Примітка: ТГС-1 і КГС-1 – трава і корені герані сибірської, зібрані у фенофазу бутонізації, ТГС-2 – трава, зібрана під час цвітіння у Волинській області; ТГС-4 і КГС-4 – трава і корені герані сибірської, зібрані у фенофазу стиглого плодоношення, ТГС-3 – трава, зібрана під час цвітіння у Рівненській області; n=5; P=95%, (M±m) – довірчий інтервал.

Результати та їх обговорення

Отримані дані, наведені на рис. 1 та в таблиці 1, свідчать, що в траві та коренях герані сибірської міститься 29 вільних амінокислот, з яких 8 є незамінними (треонін, валін, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін і триптофан) та 2 частково замінними (аргінін та гістидин). Максимальне накопичення вільних амінокислот (фосфоеаноламін, α -аміноадипінова кислота, пролін, валін, цистин, ізолейцин, лейцин, тирозин, фенілаланін і триптофан) досліджуваного виду визначено у траві, зібраній у період бутонізації у Волинській області. У період цвітіння трави герані сибірської встановлено максимальний кількісний вміст глутаміну (6,253 мкмоль/г) та фосфосерину (0,873 мкмоль/г). Найбільший вміст таурину, окипроліну, треоніну, серину, аспарагіну, глутамінової кислоти, гліцину, аланіну, цитруліну, метіоніну, β -аланіну, ГАМК, еаноламіну, орнітину, лізину, гістидину й аргініну спостерігали у траві герані сибірської, зібраній у Рівненській області в період стиглого плодоношення та розсіювання плодів.

У результаті дослідження амінокислотного складу коренів *Geranium sibiricum* L. встановлено, що значно вищим є вміст вільних амінокислот у досліджуваній сировині, зібраній у Рівненській області в період стиглого плодоношення та розсіювання плодів у порівнянні з

їх вмістом у сировині, зібраній у Волинській області у фазу бутонізації.

Отримані результати свідчать про високу концентрацію (гідр)окипроліну (52,291–127,207 мкмоль/г), серину (1,968–5,012 мкмоль/г), аспарагіну (2,847–16,832 мкмоль/г), глутамінової кислоти (0,704–6,350 мкмоль/г), глутаміну (0,966–8,349 мкмоль/г), проліну (1,489–9,975 мкмоль/г), аланіну (2,579–8,016 мкмоль/г), валіну (1,140–5,064 мкмоль/г), тирозину (0,313–4,260 мкмоль/г), фенілаланіну (0,361–2,259 мкмоль/г), ГАМК (4,650–7,243 мкмоль/г), триптофану (0,630–2,513 мкмоль/г), аргініну (0,314–11,081 мкмоль/г).

Висновки

Досліджено амінокислотний склад сировинних органів герані сибірської, зібраної на території західних областей України. У траві та коренях виявлено 29 вільних амінокислот, з яких 8 незамінних і 2 частково замінні.

Якісний амінокислотний склад у досліджуваних видах рослинної сировини, зібраної у різних умовах зростання, повністю ідентичний, а кількісний вміст знаходиться в межах 104,351–198,571 мкмоль/г і залежить від виду сировини, фази вегетації та місця зростання рослини.

Хімічний склад і вміст замінних і незамінних амінокислот свідчить про перспективність використання герані сибірської для отримання на її основі біологічно активних фітосубстанцій.

Список літератури

1. Западнюк В.И. Аминокислоты в медицине / В.И. Западнюк, Л.П. Купраш, М.И. Заика [и др.] – К.: Здоров'я, 1982. – 200 с.
2. Ластухін Ю.О. Хімія природних органічних сполук : навч. посібник / Ю.О. Ластухін. – Львів: Національний університет «Львівська політехніка», «Інтелект-Захід», 2005. – 560 с.
3. Досон Р. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот [и др.]; пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с.
4. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман; пер. с нем. – М.: Мир, 2000. – 469 с.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2-х т. / М.Д. Машковский. – М., 2003. – Т.1. – 539 с.; Т.2. – 608 с.
6. Марри Р. Биохимия человека: пособие в 2-х т. / Р. Марри, Д. Греннер. – М.: Мир, 1993. – Т.1., 384с.; Т.2., 415с.
7. Кретович В.Л. Основы биохимии растений / В.Л. Кретович. – М.: Высшая школа, 1980. – 503 с.
8. Yao X. Studies on the antibacterial constituents of *Geranium sibiricum* L. / X. Yao // Jan. – 1987. – Vol. 22, №1. – P. 28–32.
9. Cheng J.T. Antihypertensive effect of corilagin in the rat / J.T. Cheng, T.C. Lin, F.L. Hsu // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 1995. – №73. – P. 1425–1429.
10. Kinoshita S. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, *Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin / S. Kinoshita, Y. Inoue, S. Nakama [et al.] // Phytomedicine. – 2007. – № 14. – P. 755–762.
11. Uozaki M. Antiviral effect of octyl gallate against DNA and RNA viruses. / M. Uozaki, H. Yamasaki, Y. Katsuyama [et al.] // Antiviral Res. – 2007. – №73. – P. 85–91.
12. Никитина В.С. Содержание фенольных соединений и аминокислот в надземной части *Geranium pratense* и *G. sibiricum* (Geraniaceae) / В.С. Никитина, Г.В. Шендель // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44. – Вып. 2. – С. 74–81.
13. Дослідження амінокислотного складу деяких видів роду *Geranium* L. флори України / Л.М. Рибак, О.Ю. Коновалова, О.О. Цуркан, О.П. Колядич / Фітотерапія. Часопис. – 2010. – №1. – С. 99–103.
14. James R. Instruction manual single-column amino acid analysis / R. James, Ph. D. Benson. – California, USA: Durrum Chemical Corporation Printed, 1976. – 35 p.
15. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РИРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с

Відомості про авторів:

Ісюк М.В., провізор.

Бензель І.Л., асистент каф. фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Бензель Л.В., к. фарм. н., доцент каф. каф. фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Надійшла в редакцію 13.06.2012 р.



А.М. Ковальова, І.В. Грудько

Порівняльна характеристика видів підроду *Eumelilotus* роду *Melilotus* Mill. за компонентним складом ефірних олій і морфологічною будовою

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: рід *Melilotus* Mill., підрід *Eumelilotus*, морфологічна будова, систематика, хромато-мас-спектрометричний метод, ефірна олія, кумарини.

Ключевые слова: род *Melilotus* Mill., подрод *Eumelilotus*, морфологическое строение, систематика, хромато-масс-спектрометрический метод, эфирное масло, кумарины.

Key words: genus *Melilotus* Mill., subgenus *Eumelilotus* morphological structure, systematic, gas chromatography spectrometric method, essential oil, coumarins.

Досліджено та проаналізовано компонентний склад ефірних олій трави *Melilotus dentatus* Pers, *Melilotus officinalis* (L.) Pall. та *Melilotus albus* Med. Вперше складено порівняльну характеристику видів підроду *Eumelilotus* роду *Melilotus* Mill. за компонентним складом ефірних олій і морфологічною будовою.

Исследован и проанализирован компонентный состав эфирных масел травы *Melilotus dentatus* Pers, *Melilotus officinalis* (L.) Pall. и *Melilotus albus* Med. Впервые составлена сравнительная характеристика видов подрода *Eumelilotus* рода *Melilotus* Mill. на основе компонентного состава эфирных масел и морфологического строения.

Components of the essential oils of *Melilotus dentatus* Pers, *Melilotus officinalis* (L.) Pall. and *Melilotus albus* Med. were studied. For the first time a comparative description of species of the subgenus *Eumelilotus* of genus *Melilotus* Mill. according to the essential oils composition and morphological structure were showed in this article.

Буркун – *Melilotus* Mill. – рід однорічних або дворічних трав'янистих рослин родини бобових (*Fabaceae* Lindl., *Leguminosae* Endl.) нараховує, на думку різних авторів, від 8 до 20 (Суворов, 1950; Бобров, 1945) видів. На сьогодні у світовій флорі відомо до 106 назв і синонімів видів і різновидів роду. В Україні трапляються до 8 видів; в Росії та суміжних з нею країнах – 11. Буркуни розповсюджені усю Європою, крім Північних і Північно-Східних районів, на Кавказі, у Західному Сибіру і Центральній Азії, Канаді, США [3,7]. У флорі України представлений рід *Melilotus*, що складається з 7 видів, які, в свою чергу, поділяють на три підроди: I. *Eumelilotus* Suv., II. *Macromelilotus* Suv., III. *Micromelilotus* Suv.

Основні ознаки, за якими диференціюють підроди, стосуються будови бобів. Так, підрід *Eumelilotus* відрізняється яйцеподібними або еліптичними, стиснутими, сітчасто-зморшкуватими, великими бобами, розміщеними на коротких плодоніжках. Насіння дрібне, гладеньке. Чашечка рівнозубчаста. Рослини одно-, дворічні. До підроду належать види *Melilotus dentatus* Pers, *Melilotus officinalis* (L.) Pall. та *Melilotus albus* Med. [2,6].

Вперше встановлено компонентний склад ефірних олій трави 7 видів роду буркун, наведено результати морфологічного та хімічного дослідження трьох видів роду *Melilotus*, що складають підрід *Eumelilotus*: *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Melilotus dentatus* Pers. і *Melilotus albus* Med.

Методами тонкошарової (ТШХ) та газової хроматографії встановлено, що буркун лікарський та буркун білий містять значну кількість кумарину та його похідних [1,8]. Разом з тим, методом ТШХ у буркуні зубчастому кумаринові сполуки не виявлені.

Мета роботи

Доцільним є порівняння компонентного складу цих видів з метою встановлення їх спільних і відмінних

хімічних ознак; встановити ступінь схожості видів за результатами хемотаксономії та за морфологічною будовою.

Матеріали і методи дослідження

Для відгонки ефірної олії використовували метод Виноградова [4], що дозволяє отримати ефірну олію з невеликої кількості сировини і найповніше екстрагувати компоненти ефірної олії для подальшого якісного та кількісного аналізу. Склад ефірних олій досліджували на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Умови аналізу: хроматографічна колонка кварцова, капілярна HP-5MS. Довжина колонки – 30 м. Внутрішній діаметр – 0,25 мм. Газ-носії – гелій. Швидкість газу-носія 1мл/хв. Об'єм проби – 0,1–0,5мкл (для розчинів ефірної олії). Введення проби з поділом потоку 1/50. Температура термостата – 50°C з програмуванням 4°C/1 хв до 220°C. Температура детектора і випарника – 250°C. Отримані спектри розглядали як на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, так і шляхом порівняння отриманих результатів з показниками у мас-спектральній бібліотеці бази даних NIST02 (більше 174 000 речовин). Для кожного хроматографічного піку розраховували усереднений мас-спектр, від якого віднімали спектр фону. Ідентифікацію сполук проводили шляхом порівняння отриманих мас-спектрів хроматографічного піку з мас-спектрами еталонних сполук та на основі порівняння зі спектрами бази даних. Кількісний вміст розраховували за відношенням площі піків компонентів до суми площ усіх піків на хроматограмі.

Результати та їх обговорення

У результаті виявлено 94 сполуки. З огляду на великий масив даних, неідентифіковані сполуки і більшість насичених вуглеводнів у таблиці 1 не наведено.

Біологічно активні сполуки, виявлені в ході дослідження

Назва БАР	Час виходу, хв	Компонентний склад ефірної олії трави, мг/кг сировини		
		<i>Melilotus officinalis</i>	<i>Melilotus dentatus</i>	<i>Melilotus albus</i>
<i>p</i> -Цимен	8,32	25,1		
Бензиловий спирт	8,76	3,9		19
Фенілацетальдегід	8,95	21,4		23,3
Бензальдегід	9,32		16	
β -Фенілетиловий спирт	9,36	71,3		134,2
5-Метилфурфурол	9,55		12	
Ліналоол	10,75	0,2		6,9
Нонаналь	10,87	0,6	430	11,4
2,6-Диметилциклогексанол	11,29	25,3		
Саліциловий альдегід	12,09			14,8
Кумаран	12,82	39,5		145,5
Каприлова кислота	14,49		399	
Деканаль	15,5		12,3	16,3
Кетоізоферон	16,4		39	
2-Фенілпропеналь	16,64		38	
Карвакрол	17,65	141,9		
Нонанова кислота	17,75		430	
4-Вініл-2-метоксифенол	17,89	21,4		70
Евгенол	19,12	2,2		
Капронова кислота	20,33		368	
β -Іонол	20,59	14,2		
цис- β -Іонон-5,6-епоксид	20,6			16,6
β -Дамаскенон	21,54		60	
β -Іонон-5,6-епоксид	22,01	53,4	118	30,4
Геранілацетон	22,54		72	
Лауринова кислота (додеканова кислота)	24,11		1006	
Етиллаурат	24,33		259	
Ізопропіллаурат	24,64		86	
Кумарин	24,99	193,3		728,2
Фітан	26,18		163	
Етилміростат	27,29		119	
Гексагідрофарнезилацетон	27,94	84,3	559	667,1
Фарнезилацетон	28,6	9,3		53,7
Етилпентадеканоат	28,63		73	
Фарнезол	29,99			335,5
Пальмітинова кислота	30,09		4413	
Фітилацетат	32,09	66,3		52,2
Етилолеат	32,14		221	
Етилстеарат	32,25		354	
Трикозан	32,56	13,6	395	130
Фітол	33,54	228,8		766,5
Сквален	38,68	17	451	199,9

Встановлено, що характерними для усіх видів є вуглеводні (декан, додекан, β -іонон-5,6-епоксид, гексадекан, гептадекан, октадекан, гексагідрофарнезилацетон, ейкозан, хенейкозан, тетракозан, пентакозан, гептакозан, нонакозан і сквален).

У *Melilotus dentatus* не визначено кумарин і кумаран, що підтверджує дані першоджерел і результати власних досліджень, за якими буркун зубчастий є безкумариновим видом або містить слідові кількості кумаринів (його ще називають солодким буркуном) [5].

Для *Melilotus officinalis* і *Melilotus albus* характерні загальні фенольні сполуки: кумарин, кумаран, фенілацетальдегід і β -фенілетиловий спирт. *Melilotus dentatus* вирізняється вмістом таких сполук, як бензальдегід, β -дамаскенон, 5-метилфурфурол, кетоізоферон, 2-фенілбутанал; жирні кислоти та їх ефіри (етиллаурат, ізопропіллаурат, тетрадеканова кислота, етилмірилат, етиллолеат та етилстеарат). *Melilotus officinalis* вирізняється наявністю *n*-цимену, карвакролу, β -бісаболону та неофітадієну. Для *Melilotus albus* характерна наявність ліналоолу, саліцилового альдегіду, евгенолу та фарнезолу.

На основі аналізу морфологічної характеристики видів підроду *Eumelilotus* встановлено основні відмінності, наявні у будові прилистків, листя, квіток, суцвіть, бобів і насіння.

Прилистки. Для *Melilotus dentatus* характерні прилистки з 2–3 зубцями, розширені біля основи. Прилистки серединних стеблових листків надрізано зубчасті. Для *Melilotus officinalis* властиві загострено шиловидні прилистки. Для *Melilotus albus* характерні шиловидні цільнокраї прилистки, лише зрідка біля нижніх листків зубчасті.

Листя. У *Melilotus dentatus* листя довгасто-ланцетне або довгасто-ромбічне, верхні – вузкі; дрібно-гострозубчасті (голчасті) по краю, 15–25 зубчиків, верхівка зрізана з гострим кілем. Бокових жилок на листочках 18–40 пар. Жилки різко виступають. У *Melilotus officinalis* листочки дрібні (1–4 мм завдовжки), зісподу коротко опушені; у нижніх і середніх листків листочки обернено-яйцевидні або округло-яйцевидні, на верхівці тупуваті, у верхніх – ланцетні або довгастоланцетні; по краю пальчасто-дрібнозубчаті. Бокових жилок на листочках 8–14 пар. У *Melilotus albus* – листочки нижніх і середніх листків обернено яйцевидні або овально-ромбічні, при основі часто клиновидні, листочки верхніх листків довгастоланцетні, на верхівці притуплені, по краю майже від основи зубчасті, з 8–14 зубчиками з кожного боку; зісподу коротко волосисті. Бокових жилок на листочках 14–16 пар.

Суцвіття. У *Melilotus dentatus* гроно багатоквіткове, коротке (4–10 см), з 30–70 квітками, під час цвітіння – 5–15 см завдовжки. У *Melilotus officinalis* пазушні китиці

довгі, 5–15 см завдовжки, з 30–70 квітками. У *Melilotus albus* китиці вузькі, подовжені, пишні, мають від 40 до 80 квіток.

Квітки. *Melilotus dentatus* має квітки неправильні, дрібні, повислі; чашечка з 5 майже рівними зубцями, слабко опушена; вінчик жовтий, 3–3,5 мм завдовжки; прапорець довший за крила; зав'язь гола на вигнутій коротенькій ніжці. Для *Melilotus officinalis* характерні квітки повислі дрібні, квітконіжки 2 мм завдовжки, чашечка 2–3 мм завдовжки, з 5 глибокими (до половини) трикутно-яйцевидними зубцями; вінчик жовтий, 4,5–5 мм завдовжки, прапорець трохи довший за крила; човник трохи коротший за крила; зав'язь гладенька, на ніжці; стовпчик довший за неї. *Melilotus albus* має квітки 4–5 мм завдовжки, на коротких (1–2 мм) квітконіжках; чашечка близько 2 мм завдовжки, з ланцетними загостреними зубцями, вдвоє коротшими за трубочку; вінчик білий, 4–5 мм завдовжки; прапорець трохи перевищує крила, що майже дорівнюють човникові; зав'язь сидяча, ланцетна, стовпчик вдвоє довший за зав'язь.

Боби. *M. dentatus* має яйцевидні боби, 4–5 мм завдовжки, 2–2,5 мм завширшки, з виразним виступаючим кілем на спинці (одиночна ознака у роді), сітчастозморшкуваті, голі, 2-насінні. У *Melilotus officinalis* боби овальні, вгорі затуплені, на короткій ніжці, голі, дрібні (3–4 мм завдовжки, 2 мм завширшки, товщина – близько 1,5 мм), одно- чи двонасінні, поперечно-зморшкуваті, з 1–2 насіннями. *Melilotus albus* має боби подовжено-кулясті, 3–3,5 мм у діаметрі, голі, сітчасто-зморшкуваті, 1–2-рідше 3-насінні.

Насіння. У *Melilotus dentatus* насінини яйцевидні зеленувато жовті або коричневі, близько 1,5 мм завдовжки. У *Melilotus officinalis* насінини овальні, жовті, гладенькі або дрібно-бугристі, 1,7–2,2 мм завдовжки. У *Melilotus albus* насінини овальні або широкоовальні, близько 2 мм завдовжки, жовті, гладенькі або дрібнобугорчаті.

Висновки

На основі аналізу морфологічної характеристики видів підроду *Eumelilotus* встановлено основні відмінності у будові прилистків, листя, квіток, суцвіть, бобів і насіння.

У результаті хромато-мас-спектрометричного визначення компонентного складу ефірних олій трави буркуну лікарського, буркуну білого та буркуну зубчастого визначено, що спільними для трьох видів сполуками є декан, додекан, β -іонон-5,6-епоксид, гексадекан, гептадекан, октадекан, гексагідрофарнезилацетон, ейкозан, хенейкозан, тетракозан, пентакозан, гептакозан, нонакозан і сквален.

Для *Melilotus officinalis* і *Melilotus albus* характерні фенольні сполуки (кумарин, кумаран, фенілацетальдегід та β -фенілетиловий спирт).

У траві *Melilotus dentatus* кумарин і кумаран не визначено, що підтверджує дані першоджерел, що буркун зубчастий є безкумариновим видом.

Список літератури

1. Ковальова А.М. Дослідження ефірної олії трави *Melilotus officinalis* / Ковальова А.М., Грудько І. // Фармакогнозія XXI століття. Досягнення і перспективи: Тези доп. Ювілейної наук.-практ. конф. з між нар. участю (м. Харків, 26 березня 2009 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2009. – С. 100.
2. Смекалова Т.Н. Систематика культурних рослин в зв'язі з проблемами збереження, вивчення і використання генетических ресурсів рослин / Смекалова Т.Н. // Мат. Всеросійської конф. (Петрозаводск, 22–27 вересня 2008 г.). – Ч. 3. – Петрозаводск: Карельський научний центр РАН, 2008. – С. 50–63.
3. Таловина Г.В. Види роду *Melilotus* L. на території Сибіри / Таловина Г.В., Смекалова Т.Н. // Проблеми ботаники Южної Сибіри і Алтая: Мат. IV міжнарод. научно-практ. конф. – Барнаул, 2005. – С. 82–86.
4. Черногород Л.Б. Ефірні масла деяких видів роду *Achillea* L., що містять фразанол / Черногород Л.Б., Виноградов Б.А. // Раст. ресурси. – СПб., 2006. – Т. 42, Вип. 2. – С. 61–68.
5. Active Secondary Metabolites from fungi, 22. New oblongolides isolated from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. from *Melilotus dentata* from the shores of the Baltic Sea / Dai J., Krohn K., Ghele D., Kock I., Floerke U., Aust H.-J., Drager S., Schulz B., Rheinheimer J. // European Journal of Organic Chemistry. – 2005. – Vol. 18. – P. 4009–4016.
6. Identification of reciprocal translocations observed in several *Melilotus* species (subgenus *Eumelilotus*) by interspecific triple crossings / M. Maekawa, H. Kita, F. Kita // Euphytica. – 1991. – №54. – P. 255–261.
7. Role of invasive *Melilotus officinalis* in two native plant communities / L.C. Van Riper, D.L. Larson // Plant Ecolog. – 2009. – Vol. 200 (1). – P. 129–139.
8. Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas as an alternative to Soxhlet and ultrasound-assisted extraction / E. Martino, I. Ramaiola, M. Urbano, F. Bracco, S. Collina // Journal of Chromatography A. – 2006. – №1125. – P. 147–151.

Відомості про авторів:

Ковальова А.М., д. фарм. н., професор каф. фармакогнозії НФаУ.
Грудько І.В., аспірант каф. фармакогнозії НФаУ.

Надійшла в редакцію 04.04.2012 р.



О.М. Кошовий

Фенольний склад деяких представників підроду *Sclarea* роду *Salvia*

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: фенольні сполуки, листя, шавлія, підрід *Sclarea*.

Ключевые слова: фенольные соединения, листья, шалфей, подрод *Sclarea*.

Key words: phenolic compounds, leaves, *Eusalvia*, genus *Salvia*.

Вивчено якісний склад і кількісний вміст фенольних сполук листя десяти видів підроду *Sclarea* роду *Salvia*: *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans* та *S. austriaca*. Виявлено 49 речовин, 12 з яких ідентифіковано. У всіх видах виявлено кавову та розмаринову кислоти, лютеолін-7-О-глюкозид, гіспидулін і цирсимаритин. У листі досліджуваних видів рослин містяться в основному похідні флавонів (лютеоліну та апігеніну), тільки в листі *S. stepposa* і *S. Sibthorpii* виявлено ще й похідні кемпферолу та кверцетину. Найбільший вміст фенольних сполук визначено в листі *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. sylvestris* і *S. nutans*, що свідчить про перспективність використання цих видів у фармацевтичній промисловості.

Изучен качественный состав и количественное содержание фенольных соединений листьев десяти видов подрода *Sclarea* рода *Salvia*: *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans* та *S. austriaca*. Обнаружены 49 веществ, 12 из которых идентифицированы. Во всех видах идентифицированы кофейная и розмариновая кислоты, лютеолин-7-О-глюкозид, гиспидулин и цирсимаритин. В листьях исследуемых видов растений содержатся в основном производные флавонов (лютеолина и апигенина), только в листьях *S. stepposa* и *S. Sibthorpii* отмечены еще и производные кемпферол и кверцетин. Наибольшее содержание фенольных соединений определено в листьях *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. sylvestris* и *S. nutans*, что указывает на перспективность использования этих видов в фармацевтической практике.

The qualitative composition and quantitative contents of phenolic compounds from ten species *Sclarea* leaves of genus *Salvia*: *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans* and *S. austriaca*, were studied. As a whole, 49 substances were discovered in the species, which were studied, 12 from them were identified. In all four species caffeic and rosmarinic acids, luteolin-7-O-glucoside, gispiduline and cyrsimaritine, were identified. Derivatives of flavons: luteolin and apigenin basically contain in the leaves of the species, which were studied. Derivatives of kampferol and quercetine meet also in the *S. stepposa* and *S. Sibthorpii* leaves. The most contents of phenolic compounds exists in *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. sylvestris* and *S. nutans* leaves, that points to the possibility of the using these species leaves in the pharmaceutical practice.

Рід шавлія *Salvia* нараховує близько 600 видів, з них на території України трапляється 30. Офіційною сировиною в нашій країні є листя шавлії лікарської (*S. officinalis*). Батьківщиною ш. лікарської є Мала Азія, звідки рослина розповсюдилась узбережжям Середземномор'я, на території України у дикому вигляді не трапляється, але добре культивується [2,6,7]. З усього різноманіття роду використовують лише листя шавлії лікарської та ш. мускатної, хімічний склад яких добре вивчено.

Аналіз первинних джерел наукової літератури показав, що з усіх класів біологічно активних речовин (БАР) найбільш вивченими є ізопреноїдні сполуки: ациклічні, моно-, бі-, трициклічні моно- та сесквітерпеноїди, фенілпропаноїди, ди- та три терпени, жирні кислоти. Серед фенольних сполук лише з *S. officinalis*, *S. verbenaca* та *S. glutinosa* виділено деякі флавоноїди, похідні апігеніну та лютеоліну [2,6]. Це свідчить про однобічність дослідження представників цього роду і доцільність вивчення фенольних сполук для створення нових лікарських засобів.

Препарати шавлії широко використовують як антимікробні, протизапальні та в'язучі засоби для лікування інфекційно-запальних захворювань верхніх дихальних шляхів, інфекцій ротової порожнини та шкірних покривів. Фармацевтична промисловість в основному використовує листя шавлії лікарської, ефірну олію, настойку, ацетоновий екстракт «Сальвін», крім того, отримують ефірну олію шавлії мускатної (*S. sclarea*), що характеризується широким спектром антимікробної дії [2–4,6].

Особливої уваги заслуговує підрід *Sclarea*, до якого входять 44 види, більшість з яких широко розповсюджені на території України, зокрема *S. aethiopsis* L., *S. pratensis* L., *S. stepposa* Schost., *S. Sibthorpii* Sm. ex Sibth., *S. illuminata* L., *S. nemorosa* L., *S. pendula* L., *S. sylvestris* Schang., *S. nutans* L. і *S. austriaca* Jacq. [7].

Мета роботи

Вивчити склад фенольних сполук деяких представників підроду *Sclarea* роду *Salvia* для встановлення можливості створення нових лікарських засобів з цієї сировини.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами досліджень було листя *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans* та *S. austriaca*, зібране влітку 2010 року на території АР Крим та Запорізької області. Екстрагування суми БАР проводили 70% спиртом. Отримані спиртові екстракти упарювали до густих і аналізували.

Хімічний аналіз отриманих екстрактів проводили загальнопринятими методами: якісними реакціями, паперовою хроматографією (ПХ) та високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ). Екстракти розчиняли в спирті етиловому та хроматографували на папері марки «FN-12» в системах розчинників: I напрямок – 15% оцтова кислота, II напрямок – н-бутанол-оцтова кислота-вода у співвідношенні (4:1:2). Детектування фенольних сполук на хроматограмах проводили в УФ-світлі до і після обробки спиртовими розчинами калію гідроксиду та алюмінію хлориду [1,3,5].

Результати та їх обговорення

Кумарини. Для виявлення кумаринових сполук речовини екстрактів хроматографували на папері в системах хлороформ (формамід 25%), гексан (формамід 25%). При перегляді хроматограм у фільтрованому УФ-світлі до та після обробки 10% спиртовим розчином калію гідроксиду виявлено не менше 4 речовин кумаринової природи.

Флавоноїди. Після обробки двовимірних хроматограм парами аміаку та 2% спиртовим розчином алюмінію хлориду плями агліконів набули яскраво-жовтої флуоресценції, а темно-коричневі плями стали жовто-зеленими, що характерно для флавонових глікозидів. У спиртових екстрактах ідентифіковано не менше 9 речовин флавоноїдної природи. Для встановлення природи агліконів проводили кислотний гідроліз 8% хлористоводневою кислотою [1,5] та обробляли невеликою кількістю етилацетату, етилацетатну фракцію хроматографували в системі хлороформ-оцтова кислота-вода (13:6:2).

За характерною флуоресценцією, величиною R_f та забарвленням плям на хроматограмі після обробки парами аміаку та розчином алюмінію хлориду при порівнянні з достовірними зразками в усіх об'єктах ідентифіковано апігенін і лютеолін. Тільки в листі *S. stepposa* і *S. Sibthorpii* виявлено кемпферол і кверцетин.

Похідні гідроксикоричної кислоти. Етилацетатну фракцію екстрактів хроматографували з достовірними зразками похідних гідроксикоричної кислоти в системах: I – н-бутанол-кислота оцтова-вода (4:1:2) і II – 15% кислота оцтова з наступною обробкою хроматограм парами аміаку [1,5]. Встановлено, що в екстрактах міститься не менше 5 гідроксикоричних кислот, серед яких ідентифіковано кавову і розмаринову.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук проводили методом ВЕРХ за допо-

могою хроматографа Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованого проточним вакуумним дегазатором G1379A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та діодноматричним детектором G1316A. Для аналізу використано хроматографічну колонку розміром 2,1×150 мм, заповнену октадецилсилільним сорбентом зернистістю 3,5 мкм «ZORBAX-SB C-18». Аналіз проводили у таких умовах: температура термостату – 35°C; швидкість потоку рухомої фази – 0,25 мл/хв; як рухому фазу використовували розчин А (0.1% H_3PO_4 , 180 мкл/л триетиламін, 3 мл/л тетрагідрофуран у воді) і розчин В (MeOH) у співвідношенні 90:10 (перші 8 хв), 70:30 (з 8 до 24 хв), з 24 хв. використовували тільки розчин В; робочий тиск елюенту – 240–300 кПа. При аналізі встановлено такі параметри детектування: масштаб вимірювання – 1,0; час сканування – 0,5 с, параметри зняття спектра – кожен пік 190–600 нм. Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримання стандартів і спектральними характеристиками.

500,0 мг кожного екстракту зважували в мірній пробірці на 5,0 мл та доводили до мітки 90% водним метанолом. Після 30 хв на ультразвуковій бані зразок настоювали 3–4 години за кімнатної температури, потім пробірку знову поміщали на ультразвукову баню на 15 хв, далі розчин фільтрували через тefлоновий фільтр з розміром пор 0,45 мкм у віялу для аналізу. Об'єм проби складає 2 мкл. Результати дослідження фенольного складу листя досліджуваних об'єктів наведено в таблиці 1.

У листі *S. aethiopsis* виявлено 12 речовин: 3 похідних гідроксикоричної кислоти (з яких 2 ідентифіковано), 9 флавоноїдів (5); в листі *S. pratensis* визначено 12 речовин: 7 похідних гідроксикоричної кислоти (2), 5 флавоноїдів (3); в листі *S. stepposa* – 12 речовин: 6 похідних гідроксикоричної кислоти (2), 6 флавоноїдів (5); в листі *S. Sibthorpii* – 11 речовин: 4 похідні гідроксикоричної кислоти (2), 7 флавоноїдів (6); в листі *S. illuminata* – 14 речовин: 7 похідних гідроксикоричної кислоти (2), 7 флавоноїдів (3); в листі *S. nemorosa* – 16 речовин: 8 похідних гідроксикоричної кислоти (2), 8 флавоноїдів (3); в листі *S. pendula* – 8 речовин: 2 похідних гідроксикоричної кислоти (ідентифіковано усі), 6 флавоноїдів (3); в листі *S. sylvestris* – 11 речовин: 4 похідні гідроксикоричної кислоти (2), 7 флавоноїдів (5); в листі *S. nutans* – 16 флавоноїдів (7); в листі *S. austriaca* – 11 речовин: 10 похідних гідроксикоричної кислоти (2) та 1 флавоноїд – лютеолін-7-О-глюкозид.

У листі досліджуваних видів містяться в основному похідні флавонів (лютеоліну й апігеніну), тільки в листі *S. stepposa* та *S. Sibthorpii* виявлено ще й похідні кемпферолу та кверцетину. Найбільший вміст фенольних сполук визначено в листі *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. sylvestris* і *S. nutans*, що свідчить про перспективність використання цих видів у фармацевтичній промисловості.

Склад фенольних сполук листя деяких видів підроду *Sclarea* роду *Salvia*

№ з/п	Речовина	Час утримання, хв	Кількісний вміст (мг/кг) в листі:									
			<i>S. aethiopsis</i>	<i>S. pratensis</i>	<i>S. stepposa</i>	<i>S. sibthorpii</i>	<i>S. illuminata</i>	<i>S. nemorosa</i>	<i>S. pendula</i>	<i>S. sylvestris</i>	<i>S. nutans</i>	<i>S. austriaca</i>
1.	*Гідроксикорична к-та 1	10,00		153				88		71		
2.	*Гідроксикорична к-та 2	10,51										765
3.	*Гідроксикорична к-та 3	10,98		217	21		174	139				
4.	*Гідроксикорична к-та 4	11,54					161	30				
5.	*Гідроксикорична к-та 5	11,89										549
6.	*Гідроксикорична к-та 6	12,15					219					
7.	*Гідроксикорична к-та 7	13,64										373
8.	Кавова к-та	13,96	39	118	26	87	258	138	37	191		245
9.	*Гідроксикорична к-та 8	14,49		808	46	88	337	386		338		
10.	*Гідроксикорична к-та 9	15,13	78									611
11.	Віценін-2	15,71									1428	
12.	*Гідроксикорична к-та 10	15,89										170
13.	*Похідна лютеоліну 1	17,05						1614				
14.	*Гідроксикорична к-та 11	17,32										1303
15.	*Гідроксикорична к-та 12	17,42		476								
16.	*Флавіон 1	17,61									3294	
17.	*Флавіон 2	18,13					935	920				
18.	*Похідна апігеніну	18,46	277									
19.	*Похідна лютеоліну 2	18,78	433		182		872	814				
20.	*Гідроксикорична к-та 13	18,88										322
21.	*Похідна лютеоліну 3	19,18					1134		169			
22.	Лютеолін-7-О-глюкозид	19,40	198	11493	245	673	1931	5494	224	1395	2349	435
23.	Рутин	19,74			358	409						
24.	*Гідроксикорична к-та 14	20,30										320
25.	Розмаринова к-та	20,52	552	6899	1223	1123	6811	3100	92	3489		4147
26.	*Похідна лютеоліну 4	20,64									596	
27.	*Гідроксикорична к-та 15	20,86		1162	119		798					
28.	Апігенін-7-О-глюкозид	20,96	218			209				1015	512	
29.	*Флавіон 3	21,05		3337			1853			2110		
30.	*Похідна лютеоліну 5	21,13	554					4211			4487	
31.	Кемпферол-3-О-глюкозид	21,28			207	436						
32.	*Похідна лютеоліну 6	21,56		1395		368						
33.	*Гідроксикорична к-та 16	21,89						283				
34.	*Флавіон 4	22,02							271		166	
35.	*Гідроксикорична к-та 17	22,18			178	125		987		1106		
36.	*Похідна лютеоліну 7	22,22									2639	
37.	*Похідна лютеоліну 8	22,58									4448	
38.	6-гідроксилютеолін-5-глюкозид	23,12									893	
39.	*Похідна лютеоліну 9	23,99									8400	
40.	*Флавіон 5	24,16							197	504		
41.	Лютеолін	24,59									4369	
42.	*Флавіон 6	25,34									1983	
43.	Апігенін	25,95	201							212		
44.	*Похідна лютеоліну 10	26,46									2675	
45.	*Флавіон 7	26,75									718	
46.	*Флавіон 8	27,40						378				
47.	Гспідулін	27,82	461	88	70	195	931	579	1256	1198	711	
48.	Цирсимаритин	30,38	1378	468	110	373	1559	2104	1269	1748	3258	
49.	*Флавіон 9	32,12	252									
Вміст гідроксикоричних кислот, %			0,07	0,98	0,16	0,14	0,88	0,52	0,01	0,52	0	0,88
Вміст флавоноїдів, %			0,40	1,68	0,12	0,27	0,92	1,61	0,34	0,81	4,29	0,04
Вміст суми фенольних сполук, %			0,47	2,66	0,28	0,41	1,80	2,13	0,35	1,33	4,29	0,92

Примітка: * – речовину не ідентифіковано.

Висновки

Вивчено якісний склад і кількісний вміст фенольних сполук листя десяти видів підроду *Sclarea* роду *Salvia*. У досліджуваних об'єктах визначено 49 речовин, 12 з яких ідентифіковано.

Найбільший вміст фенольних сполук відзначено в листі *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. sylvestris* і *S. nutans*, що свідчить про перспективність використання цих видів у фармацевтичній промисловості для створення нових лікарських засобів, але це потребує подальшого дослідження.

Список літератури

1. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л.М. Малоштан, І.М. Мудрик // Фармаком. – 2005. – №2/3. – С. 151–161.
2. Комарова В.Л. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование / Комарова В.Л. – СПб.: Наука, 1991. – С. 72–83.
3. Кошовий О.М. Перспективи створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської / Кошовий О.М., Передерій Є.О., Гудзенко О.П. та ін. // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – №1. – С. 33–35.
4. Кошовий О.М. Дослідження ізопреноїдного складу та антимікробної активності густого екстракту листя шавлії лікарської / Кошовий О.М., Передерій Є.О., Осолодченко Т.П. та ін. // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, №1. – С. 26–29.
5. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін / Ковальова А.М., Георгієвський Г.В., Ковальов В.М., Комісаренко А.М., Тимченко М.М. // Фармаком. – 2002. – №2. – С. 92–97.
6. Фармацевтична енциклопедія / Під ред. В.П. Черних. – 2-ге вид. – К.: «МОРИОН», 2010. – 1598 с.
7. Флора СССР / Под ред. Б.К. Шишкина. – М.: Издательство академии наук СССР, 1954. – Т. XXI. – С. 244–374.

Відомості про автора:

Кошовий О.М., к. фарм. н., доцент каф. хімії природних сполук НФаУ.

Надійшла в редакцію 20.02.2012 р.



Е.А. Красных¹, В.И. Мозуль², В.С. Доля², Е.Н. Очкасова³

Изучение химического состава и антибактериальной активности эфирного масла *Cupressus sempervirens* L.

¹Медицинский центр «Аура», г. Запорожье,

²Запорожский государственный медицинский университет,

³Запорожская областная клиническая больница

Ключові слова: кипарис вічнозелений, ефірна олія, хромато-мас-спектрометрія, антибактеріальна дія.

Ключевые слова: кипарис вечнозеленый, эфирное масло, хромато-масс-спектрометрия, антибактериальное действие.

Key words: *Cupressus sempervirens* L., essential oil, chromat-mass-spectrometry, antibacterial action.

При дослідженні якісного складу та кількісного вмісту основних компонентів ефірної олії кипарису вічнозеленого встановлено, що переважаючими сполуками є α -пінен (33,725%), Δ^3 -карен (13,843%) і α -кедрол (8,031%). Найбільшу антимікробну дію ефірної олії кипарису спостережено відносно до штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 і *Escherichia coli* ATCC 25922. Кипарис вічнозелений є перспективною лікарською рослиною для отримання антимікробних засобів.

При изучении качественного состава и количественного содержания основных компонентов эфирного масла кипариса вечнозеленого установлено, что преобладающими соединениями являются α -пинен (33,725%), Δ^3 -карен (13,843%) и α -кедрол (8,031%). Наиболее выраженное антимикробное действие эфирного масла кипариса отмечено на штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Escherichia coli* ATCC 25922, что является перспективным для получения антимикробных средств.

The qualitative composition and quantitative content of the main components of *Cupressus sempervirens* L. essential oil were determined. 40 components identified in the essential oil. The basic components of leaves *Cupressus sempervirens* L. essential oil are α -pinen (33,725%), Δ^3 -karen (13,843%), α -kedrol (8,031%). Essential oil show active antimicrobial effects against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Escherichia coli* ATCC 25922. The leaves of *Cupressus sempervirens* L. are a perspective medicinal raw material for making antimicrobial drugs.

Несмотря на бурное развитие химической промышленности, проблема поиска новых лекарственных препаратов растительного происхождения остается актуальной.

В настоящее время значительное внимание уделяется фармакологическим исследованиям и химии эфирных масел. Эта группа природных веществ обладает широким спектром терапевтического действия при незначительной токсичности [9].

Род кипарис (*Cupressus*) насчитывает 14 видов растений, широко произрастающих в Евразии, Северной Америке, Северной Африке. Самый распространенный – кипарис вечнозеленый пирамидальный, культивируемый на Черноморском побережье Кавказа, в Средней Азии. В Крыму культивируется с 1787 г., куда ввезен из Константинополя [2,3].

Плоды, листья, побеги кипариса вечнозеленого (*Cupressus sempervirens* L.) используются с древних времен при кровоизлияниях, варикозном расширении вен, геморрое, маточных кровотечениях, гриппе, спазмах, раздражительности, желудочно-кишечных заболеваниях [3,4,8]. В китайской медицине шишки используют для стимуляции работы печени [10]. В современной медицине некоторых стран эфирное масло и галеновые препараты кипариса используют при подагре, гипергидрозе, при стоматитах, гингивитах, варикозном расширении вен [4–6,9].

Эфирное масло кипариса оказывает антисептическое, тонизирующее, бактерицидное, инсектицидное, вяжущее, сосудосуживающее, спазмолитическое действие. Его назначают при бронхо-легочных заболеваниях, кисте яичников, нервных и эмоциональных расстройствах, дерматитах, при аллергических заболеваниях [7,9,11].

Химический состав различных органов кипариса вечнозеленого (*Cupressus sempervirens* L.) изучен недостаточно.

Цель работы

Определение качественного состава и количественного содержания основных компонентов эфирного масла *Cupressus sempervirens* L. и изучение его антибактериальной активности.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали образцы сырья кипариса (*Cupressus sempervirens* L.), собранные в 2011 г. в разных районах АР Крым.

Эфирное масло получали методом гидродистилляции. Физико-химические показатели определяли фармакопейными методами [1].

Качественный и количественный состав эфирного масла кипариса вечнозеленого исследовали с помощью газового хроматографа Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973.

Таблица 1

Качественный и количественный состав эфирного масла кипариса вечнозеленого

Время удерживания	Содержание, %	Компоненты эфирного масла
7,35	0,423	α-туйен
7,73	33,725	α-пинен
8,09	0,504	α-фенхен
8,15	0,213	камфен
8,87	2,932	сабинен
9,06	2,013	β-пинен
9,37	4,201	мирцен
10,15	13,843	Δ ³ -карен
10,36	0,477	α-терпинен
10,62	0,357	сильвестрен
10,83	4,181	лимонен
10,88	0,317	β-фелландрен
11,81	1,048	γ-терпинен
12,62	0,202	изотерпинолен
12,81	4,436	терпинолен
13,27	0,418	линалоол
15,83	0,199	умбеллулон
16,30	3,300	терпинен-4-ол
16,79	0,440	α-терпинеол
18,19	0,169	метилкарвакрол
19,58	1,128	борнилацетат
19,84	0,288	не идент.
20,56	0,165	миртенилацетат
20,80	0,867	терпинен-4-ол ацетат
21,16	4,754	α-терпинилацетат
22,82	1,190	β-кариофиллен
22,94	0,182	β-фунебрен
23,53	1,305	гумулен
23,64	0,179	цис-муурола-4(14),5-диен
23,86	0,237	не идент.
24,02	2,100	гермакрен D
24,63	0,367	δ-кадинен
25,27	0,299	не идент.
25,82	0,244	кариофилленоксид
26,10	0,538	не идент.
26,36	8,031	α-кедрол
26,76	0,166	не идент.
26,94	0,352	α-кадинол
27,29	0,350	валеранон
27,81	0,483	валереналь
29,85	0,196	не идент.
31,71	0,490	маноилоксид
31,80	1,134	изопимарадиен
32,41	0,278	дегидроабьетан
33,00	0,997	3(16),14-лабдиен-8-ол
35,28	0,282	тотарол

Для анализа использовали хроматографическую колонку ДВ-5 длиной 30 м; внутренний диаметр – 0,25 мм; газ-носитель – гелий; скорость потока – 1 мг/мин. Температуру термостата программировали от 50 до 250°C; температура инжектора – 250°C.

Компоненты эфирных масел идентифицировали по результатам сравнения полученных масс-спектров с данными библиотеки масс-спектров NIST 05-WILLEY 2007 (более 47 000 масс-спектров).

Микробиологическое исследование проводили методом серийных разведений со следующими культурами микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Candida albicans* ATCC 885653, *Pseudomonas aeruginosa* ACC 27853, *Klebsiella pneumonia* штамм №68, *Proteus vulgaris* штамм №15.

Для изучения микробиологической активности методом разведений эфирное масло кипариса разводили в соотношении 1:25; 1:50; 1:100; 1:200; 1:400; 1:800 и 1:1600. Оценку результатов осуществляли по интенсивности угнетения роста той или иной культуры с минимальной концентрацией. Посевы инкубировали в термостате при 37° в течение 18–24 часов. Попытки для определения активности образцов эфирных масел сопровождались контролями тест-культур бактерий, грибов и использованных растворителей. Одновременно контролировали качество питательных сред, их стерильность, а также рост на этих средах индикаторных тест-штаммов.

Результаты и их обсуждение

Содержание эфирного масла в пересчете на абсолютно сухое сырье в листьях кипариса вечнозеленого составляет 0,58±0,002%. Эфирное масло желто-зеленого цвета, с приятным хвойным, смолистым, камфорным запахом со следующими физико-химическими константами: плотность – 0,8738; n_D²⁰ – 1,4753; кислотное число – 0,32; эфирное число – 5,79; эфирное число после ацетилирования – 15,8.

В результате хромато-масс-спектрометрического исследования определены 46 компонентов, 40 из которых идентифицированы (табл. 1).

Хроматограмма эфирного масла кипариса представлена на рис. 1.

Установлено высокое содержание α-пинена (33,725%), Δ³-карена (13,843%), α-кедрола (8,031%).

В меньших количествах выявлены α-терпинилацетат (4,754%), терпинолен (4,436%), мирцен (4,201%), лимонен (4,181%), терпинен-4-ол (3,300%), сабинен (2,932%), гермакрен D (2,100%), β-пинен (2,013%), β-кариофиллен (1,190%), гумулен (1,305%), изопимарадиен (1,134%), борнилацетат (1,128%), γ-терпинен (1,048%). Остальные компоненты обнаружены в количествах меньше 1%. По данным специализированной литературы, пинен обладает антисептическим, противовоспалительным, бактерицидным, отхаркивающим, тонизирующим действием. Эфирное масло кипариса вечнозеленого

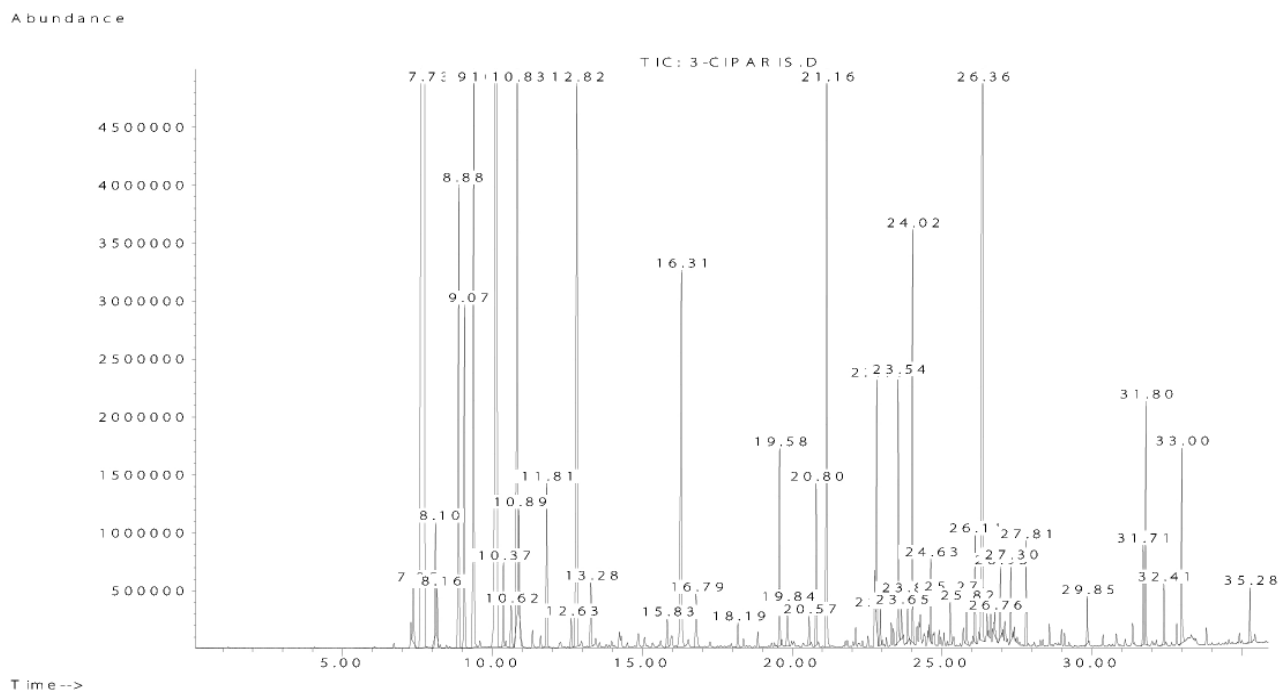


Рис. 1. Хроматограмма эфирного масла кипариса вечнозеленого.

– перспективное растительное сырье для получения антимикробных средств.

Эфирное масло кипариса исследовали на антимикробную активность.

При сравнении действия эфирного масла на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы определена их более выраженная чувствительность по сравнению с настоями.

Для проверки степени активности эфирного масла использовали метод серийных разведений в жидкой питательной среде. Все образцы эфирного масла кипариса вечнозеленого проявляют выраженную антимикробную активность. Минимальная угнетающая концентрация колеблется от 1:25 до 1:800 в зависимости от образца индикаторного тест-штамма микроорганизмов. Эфирное масло кипариса вечнозеленого обладает широким спектром действия, угнетая рост микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* ACC 27853, *Klebsiella pneumonia* штамм № 68, *Proteus vulgaris* штамм № 15. Одновременно эфирное масло кипариса угнетает рост грибов рода *Candida*, в отношении которых оно проявляет более высокую активность, чем на бактериях.

Наиболее выраженное антимикробное действие эфирного масла кипариса наблюдали относительно штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Большое разнообразие биологически активных веществ растений семейства кипарисовые обуславливает широкий спектр их терапевтического действия и использования в медицине. Экспериментальные данные свидетельствуют, что наибольшую антимикробную и фунгицидную активность имеют эфирные масла рас-

тений и спиртовые экстракты. По данным клинических исследований, растения семейства кипарисовые проявляют противовирусный, антипролиферативный, антибластомный и иммуномодулирующий эффекты.

В гомеопатической медицине используют спиртовый экстракт однолетних, не одревесневших ветвей, собранных в начале цветения. Эту эссенцию готовили для приготовления суппозиторий под условным названием «Гиневит-2». Суппозитории с гомеопатической эссенцией кипариса вечнозеленого готовили согласно руководству по описанию и изготовлению гомеопатических лекарств.

Клинически применяли в группе 45 женщин 19–45 лет. Нозологические формы, при которых применяли суппозитории с гомеопатической эссенцией кипариса: хронические и острые кольпиты (100%), острые цервициты (38%), хронические цервициты (56%), хронические цервициты с пролиферацией (23%), хронические цервициты с дисплазией цилиндрического и многослойного плоского эпителия (от легкой до тяжелой степени CIN 1 – CIN 3) (21%), полипоз или микрополипоз цервикального канала (9%).

Наличие вирусной инфекции по данным цитологического обследования диагностировано в 85% случаев, что подтверждено результатами иммунологического обследования (герпесвирусная и цитомегаловирусная) инфекция, признаки папилломавирусной инфекции (подтверждено данными ПЦР-обследования). Всем пациентам с бактериальным вагинозом проводили микробиологические исследования на флору и чувствительность к антибиотикам. По данным бактериологического исследования определены следующие штаммы бактерий:

Klebsiella pneumoniae > 10⁷ КОЕ в 1мл
Eshcherichia coli >10⁴–10⁷ КОЕ в 1мл
Eshcherichia coli (геМ*) >10⁸ КОЕ в 1мл
Klebsiella oxytoxa > 10⁴ КОЕ в 1мл
Staphylococcus aureus 5*10⁵– 10⁷ КОЕ в 1мл
Staphylococcus epidermidis >10⁷ КОЕ в 1мл
Enterococcus faecalis >(геМ*) 10⁷ КОЕ в 1мл
Ureaplasma urealiticum >10⁴ КИУ в 1 мл
Streptococcus agalactica >(В) 10⁶ КОЕ в 1 мл
Streptococcus mitis > 10⁷ КОЕ в 1 мл
Candida albicans >10⁷ КОЕ в 1 мл
Pseudomonas aeruginosa >10⁴ КОЕ в 1 мл
Pseudomonas spiralis >10⁴ КОЕ в 1 мл
Gardnerella vaginalis >10⁵ КОЕ в 1 мл

Указанные возбудители оказались чувствительны к группе антибиотиков в основном цефалоспоринового, нитрофуранового, фторхинолонового ряда, азитромицину, клиндамицину, флюконазолу, нистатину, клотримазолу.

Свечи с эссенцией кипариса выбраны в качестве монотерапии для санации влагалища, учитывая наличие особенностей лабораторных и клинических данных практически во всех случаях: микст-инфекции (бактериально-вирусно-кандидозная), этиологии

воспалительных процессов, длительность течения заболеваний, пролиферации и дисплазии эпителия. Курс лечения обычно составлял 10–12 дней.

По результатам клинического исследования, что подтверждено лабораторными данными, во всех случаях отмечена санация влагалища с сохранением естественной микрофлоры влагалища, регресс пролиферации и дисплазии эпителия шейки матки.

Выводы

В результате хромато-масс-спектрометрического исследования идентифицированы 40 компонентов. Установлено высокое содержание α -пинена (33,725%), Δ^3 -карена (13,843%), α -кедролола (8,031%).

Наиболее выраженное антимикробное действие эфирного масла кипариса отмечено на штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Клинические исследования гомеопатических препаратов из кипариса вечнозеленого подтвердили широкий спектр их антимикробной активности.

Растения семейства кипарисовые требуют дальнейшего углубленного изучения и могут быть источником новых лекарственных средств, а также имеют перспективы более широкого применения в медицине.

Список литературы

1. Державна Фармакопея України: 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 620 с.
2. Дикорастущие и культивируемые растения, их диагностика и применение: Справочник / Под ред. Л.М. Городнянской. – Х.: Б.И., 1991. – 428 с.
3. Дикорастущие полезные растения Крыма / Под ред. Рубцова Н.И. – Ялта: 1971. – 278 с.
4. Дудченко Л.Г. Застосування рослин класу хвойні в медицині. Родини тисові, кипарисові / Дудченко Л.Г., Грабова Т.Ю. // Фітотерапія. Часопис. – №1. – 2011. – С. 64–68.
5. Дудченко Л.Г. Значення ароматерапії у реабілітації та профілактиці / Л.Г. Дудченко, Т.П. Гарник // Фітотер. в реабіліт. хворих. Зб. тез наук.-практ. конф., 14 жовтня 2003. – С. 31.
6. Кьюсев А.П. Полный справочник лекарственных растений / Кьюсев П.А. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 992 с.
7. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Під ред. А.М. Гродзинського. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1991. – 544 с.
8. Мінарченко В.М. Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення) / В.М. Мінарченко. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 394 с.
9. Селлар В. Энциклопедия эфирных масел / Селлар В. – М.: Гранд-Фаир, 2005. – 394 с.
10. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія / Чекман І.С. – К.: Вид-во Рада, 2005. – 510 с.
11. Fischer-Rizzi Suzanne. Complete aromatherapy handbook. Essential oils for radiant-health / Fischer-Rizzi Suzanne. – NY: Stearling publ. Co. Inc. 1990. – 240 p.

Сведения об авторах:

Красных Е.А., к. мед. н., главный врач медицинского центра «Аура».
Мозуль В.И., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозии ЗГМУ.
Доля В.С., д. фарм. н., профессор каф. фармакогнозии ЗГМУ.
Очкасова Е.Н., бактериолог бактериологической лаборатории ЗОКБ.

Надійшла в редакцію 09.08.2012 р.



С.В. Панченко¹, С.Н. Соленикова³, Т.А. Горохова¹, Д.С. Круглов², В.Г. Корниевская¹,
Ю.И. Корниевский¹, Н.С. Фурса²

Масс-спектрометрическое определение химических элементов в корневищах с корнями четырех видов *Valeriana officinalis* L. s. l.

¹Запорожский государственный медицинский университет,

²Ярославская государственная медицинская академия,

³ГУЗ ЯО Детская поликлиника №3

Ключові слова: валеріана, мас-спектрометрія, макро- і мікроелементи.

Ключевые слова: валериана, масс-спектрометрия, макро- и микроэлементы.

Key words: valeriana, mass-spectroscopy, macro- and microelements.

У результаті мас-спектрометричного визначення елементного складу корневищ з корнями валеріани лікарської (*Valeriana officinalis* L. s. str.), в пагорбової (*V. collina* Wallr.), в. бузинолистої (*V. sambucifolia* Mikan fil.) та в. Гроссгейма (*V. grossheimii* Worosch.), зібраних у Запоріжжі, Смілі, у сільському районі (Іванівської обл.), у горах Кавказу і Карпат визначено 61 елемент, третину яких складають есенціальні й умовно есенціальні, накопичення окремих елементів зумовлене місцем збору зразків. Відзначено, що концентрація більшості елементів, у тому числі техногенних, у сировині з міських територій вища, ніж з сільської місцевості та особливо з гірських масивів.

В результаті мас-спектрометрического определения элементного состава корневищ с корнями валерианы аптечной (*Valeriana officinalis* L. s. str.), в. холмовой (*V. collina* Wallr.), в. бузинолистной (*V. sambucifolia* Mikan fil.) и в. Гроссгейма (*V. grossheimii* Worosch.), собранных в Запорожье, Смеле, в сельской местности (Ивановская обл.), в горах Кавказа и Карпат определено наличие 61 элемента, третью часть которых составляли эссенциальные и условно эссенциальные, накопление отдельных элементов обусловлено местом сбора анализируемых образцов. Обнаружено, что концентрация большинства элементов, в том числе техногенных, в сырье из городских территорий выше, чем из сельской местности и особенно из горных массивов.

As a result of mass-spectrometric determination of elemental composition valerian rhizomes with roots of *Valeriana officinalis* L. s. Str., *V. collina* Wallr., *V. sambucifolia* Mikan fil. and *V. grossheimii* Worosch., collected in the cities Zaporozhye, Smela, in rural areas (Ivanovo region), in the Caucasus Mountains and the Carpathians, showed the presence of 61 elements, a third of whom were essential and conditionally essential ones, due to the accumulation of individual elements of a gathering place for the analyzed samples, it was found that the concentration of most elements in the including man-made, the raw material from urban areas is higher comparatively to rural areas, especially mountain ranges.

На протязенні длительного времени изучаются органические вещества *Valeriana officinalis* L. s. l., что обусловлено возможностью их применения не только в медицине, но и для таксономии [1–6]. Начиная с первой половины XIX века, Линнеевский таксон *V. officinalis* подвергался исключительно интенсивному дроблению. В настоящее время его рассматривают как сложный комплекс из 9 близкородственных видов, классификация которых в таксономическом аспекте крайне трудная [5]. Вместе с тем, их элементный состав, как и других видов рода, не изучен. Валерианы различаются хромосомными числами, величиной замыкающих клеток устьиц и пыльцевых зерен. Так, в. аптечная – диплоидный вид ($2n=14$), средняя длина замыкающих клеток устьиц равна $29,16\pm 0,52$ мкм, средний максимальный диаметр пыльцевых зерен – $47,62\pm 0,89$ мкм; в. холмовая – тетраплоид ($2n=28$), средняя длина замыкающих клеток устьиц равна $28,30\pm 1,32$ мкм, средний максимальный диаметр пыльцевых зерен – $50,58\pm 1,43$ мкм; в. бузинолистная – октаплоид ($2n=56$), средняя длина замыкающих клеток устьиц составляет $34,19\pm 1,09$ мкм, средний

максимальный диаметр пыльцевых зерен – $60,86\pm 2,04$ мкм; в. Гроссгейма – гексаплоид ($2n=42$), у которого средняя длина замыкающих клеток устьиц в пределах $35,58\pm 1,12$ мкм, средний максимальный диаметр пыльцевых зерен – $62,10\pm 1,18$ мкм [5].

Цель работы

Масс-спектрометрическое определение элементного состава официального сырья 4 видов из цикла *V. officinalis* L. s.

Материалы и методы исследования

В местах естественного произрастания для исследования заготовлены корневища с корнями следующих видов из цикла *V. officinalis* L. s. l.: на правом берегу Днепра в г. Запорожье и на обочине бывшего колхозного поля, на опушке леса в д. Мясниково Тейковского района Ивановской обл. валерианы аптечной (*V. officinalis* L. s. str.), на верху склона Канцеровской балки в Запорожской обл. и в окрестностях г. Смела Черкасской обл. в. холмовой (*V. collina* Wallr.), в Закарпатье в. бузинолистной (*V. sambucifolia* Mikan fil.) и на горе Цхра-Цкаро в окрестностях п. Бакуриани в Грузии в. Гроссгейма (*V. grossheimii* Worosch.). Это кистекорневые растениями со столонами

(в. холмовая и в. бузинолистная) или без них (в. аптечная и в. Гроссгейма), у которых соцветие – плейотирс разной степени разветвленности и плод – аггедула неодинаковой опушенности. Масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой с использованием прибора ELAN-DRC-е проведено определение элементного состава заготовленных образцов валерианы [7]. Для контроля точности определений применяли метод добавок. Цель пробоподготовки состоит в переведении пробы в растворенную форму, удобную для ввода в спектрометр. Переведение в раствор достигается обработкой проб концентрированной азотной кислотой при открытом и автоклавном разложении.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью компьютерной программы Statistika 6.0 AXXR712D833214FAN5.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований обобщены в *таблице 1*. При этом выявлен 61 элемент, из которых 7 макро- (Al, Ca, K, Mg, Na, P, Si), 53 микро- и ультрамикроэлемента (Ag, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Br, Ce, Cd, Co, Cs, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Hg, Ho, I, La, Li, Lu, Mn, Mo, Nb, Nd, Ni, Pb, Pr, Rb, Sb, Se, Sm, Sn, Sr, Ta, Tb, Th, Ti, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr). Максимум большинства (36) из них (Ca, Mg, Be, V, Bi, W, Gd, Ga, Ge, Ho, Dy, Eu, Fe, Y, I, Co, La, Li, Lu, As, Nd, Nb, Sn, Pr, Hg, Sm, Pb, Tl, Tb, Th, Tm, U, Cs, Ce, Zr, Zn) определен в запорожском образце валерианы аптечной, затем (8) в запорожском образце валерианы холмовой (Al, Hf, Yb, Ni, Se, Sr, Sb, Cr), 6 (K, P, B, Mn, Rb, Zn) – черкасском, 5 (Na, Au, Cd, Mo, Ta) – закавказском и 1 (Ca) – грузинском образцах. При анализе минимальных значений все оказалось наоборот. Больше всего (27) их содержалось в грузинском (Si, Be, Br, Gd, Hf, Ge, Ho, Dy,

Таблица 1

Элементный состав корневищ с корнями валерианы лекарственной

Элементы	Valeriana					
	officinalis L. s. str.		collina Wallr.		grosheimii Worosch.	sambucifolia Mikan.
	г. Запорожье	д. Теньково	г. Смела	Канцеровская балка	г. Бакуриани	Закарпатье
Макроэлементы, мкг/г, M±m						
Алюминий (Al)	3474,0±30	2506,0±25	880,0±8	3899,0±35	992,0±10	602,0±6
Калий (K)	18919,0±190	14124,0±140	21200,0±201	19380,0±192	17268,0±165	15322,0±152
Кальций (Ca)	6659,0±650	4404,0±440	5608,0±570	5688,0±568	4574,0±558	4294,0±545
Кремний (Si)	21149,0±320	33934,0±325	1240,0±89	12519,0±250	345,0±26	580,0±35
Магний (Mg)	2160,0±432	1562,0±312	1862,0±372	1565,0±313	1985,0±397	1393,0±278
Натрий (Na)	739,0±74	541,0±55	148,0±15	390,0±40	344,0±35	2006,0±120
Фосфор (P)	2121,0±210	2639,0±260	3080,0±301	2177,0±212	2356,0±215	980,0±95
Микро- и ультрамикроэлементы, мкг/г, M±m						
Барий (Ba)	77,4000±7,2	92,0000±8,5	87,2000±8,2	51,0000±4,8	18,0000±1,5	10,8000±0,9
Бериллий (Be)	0,1400±0,01	0,0820±0,007	0,0430±0,003	0,0850±0,006	0,0200±0,001	0,0410±0,003
Бор (B)	21,9000±2,0	20,7000±1,8	27,4000±2,5	23,0000±2,1	24,8000±2,2	16,0000±1,3
Бром (Br)	8,2000±0,7	11,9000±1,0	7,2600±0,6	2,2600±0,2	1,7300±0,1	1,8600±0,1
Ванадий (V)	7,6200±0,7	4,1600±0,4	1,7400±0,1	6,0000±0,6	1,5000±0,1	1,2000±0,1
Висмут (Bi)	0,0440±0,004	0,0099±0,001	0,0073±0,001	0,0190±0,002	0,0110±0,001	0,0083±0,001
Вольфрам (W)	0,2230±0,02	0,0810±0,008	0,0270±0,002	0,1300±0,01	0,0800±0,008	0,0940±0,01
Гадолиний (Gd)	0,4600±0,03	0,1700±0,01	0,0830±0,006	0,2900±0,02	0,0480±0,003	0,0640±0,005
Галлий (Ga)	1,2200±0,1	1,0200±0,1	0,2900±0,02	1,0000±0,1	0,2800±0,02	0,1500±0,01
Гафний (Hf)	0,3900±0,04	0,3100±0,03	0,0690±0,007	8,1600±0,4	0,0120±0,001	0,0160±0,001
Германий (Ge)	0,2000±0,02	0,1300±0,01	0,0660±0,005	0,1000±0,01	0,0120±0,005	0,0160±0,002
Гольмий (Ho)	0,0680±0,006	0,0310±0,003	0,0120±0,001	0,0460±0,003	0,0059±0,0006	0,0098±0,001
Диспрозий (Dy)	0,3700±0,04	0,1100±0,01	0,0640±0,005	0,2500±0,02	0,0290±0,003	0,0510±0,004
Европий (Eu)	0,0900±0,009	0,0360±0,003	0,0170±0,001	0,0640±0,005	0,0100±0,001	0,0150±0,002
Железо (Fe)	2291,0000±105	1017,0000±51	544,0000±26	2023,0000±99	555,0000±24	391,0000±20
Золото (Au)	< 0,0001	< 0,0001	0,0017±0,0002	< 0,0001	0,0002±0,0001	0,0047±0,0003
Иттербий (Yb)	0,2100±0,02	0,0890±0,008	0,0330±0,003	1,3000±0,1	0,0110±0,001	0,0210±0,002
Иттрий (Y)	1,7300±0,1	0,7200±0,07	0,3200±0,03	1,2200±0,1	0,1600±0,02	0,3000±0,03
Йод (I)	1,6400±0,14	0,1000±0,01	0,1100±0,01	0,3990±0,04	0,300±0,03	0,1500±0,01
Кадмий (Cd)	0,1200±0,01	0,1800±0,015	0,1100±0,012	0,0600±0,001	0,0660±0,001	0,4600±0,04
Кобальт (Co)	1,4100±0,09	0,7900±0,05	0,4200±0,03	0,9200±0,08	0,6700±0,06	0,3100±0,03
Лантан (La)	2,3400±0,21	1,0100±0,1	0,4800±0,04	1,5500±0,12	0,2600±0,021	0,2700±0,022
Литий (Li)	2,8600±0,2	1,5600±0,1	0,5300±0,05	2,6000±0,2	0,5900±0,06	0,8400±0,08
Лютеций (Lu)	0,0310±0,003	0,0180±0,001	0,0055±0,0005	0,0190±0,002	0,0043±0,003	0,0035±0,002
Марганец (Mn)	85,8000±6,5	65,2000±4,5	95,1000±7,5	49,0000±2,9	25,2000±0,9	18,0000±0,3
Медь (Cu)	8,0900±0,08	14,0000±0,13	6,7800±0,06	7,6700±0,07	21,9000±0,2	17,4000±0,12

Продолжение таблицы 1

Молибден (Mo)	0,7400±0,07	0,4900±0,04	0,1300±0,01	1,6900±0,14	1,1100±0,11	1,8800±0,13
Мышьак (As)	5,1400±0,5	< 0,0005	< 0,0005	4,0200±0,4	< 0,0005	< 0,0005
Неодим (Nd)	2,1300±0,2	0,7200±0,07	0,3900±0,04	1,5100±0,15	0,2300±0,02	0,2900±0,03
Никель (Ni)	4,5500±0,5	2,8600±0,3	2,5700±0,2	4,7100±0,5	1,3200±0,1	2,0100±0,2
Ниобий (Nb)	1,1000±0,11	0,9500±0,09	0,2100±0,02	0,6300±0,05	0,0830±0,07	0,0690±0,06
Олово (Sn)	0,2800±0,03	0,2000±0,02	0,0870±0,008	0,1800±0,01	0,0550±0,005	0,1000±0,01
Празеодим (Pr)	0,5800±0,06	0,2000±0,02	0,1200±0,01	0,3900±0,03	0,0580±0,005	0,0690±0,007
Ртуть (Hg)	0,1600±0,02	0,0043±0,0004	0,0120±0,001	0,0007±0,0005	0,0160±0,001	0,0046±0,0005
Рубидий (Rb)	12,7000±1,2	14,0000±1,4	26,8000±2,6	8,3900±0,8	13,7000±1,3	15,7000±1,5
Самарий (Sm)	0,4600±0,04	0,1900±0,02	0,1000±0,01	0,3100±0,03	0,0520±0,005	0,0560±0,006
Свинец (Pb)	5,7900±0,6	1,4400±0,15	1,0500±0,1	3,2200±0,31	0,8300±0,08	0,4900±0,05
Селен (Se)	0,2200±0,02	0,0990±0,001	< 0,0005	0,3100±0,03	0,0580±0,005	0,4200±0,03
Серебро (Ag)	0,0560±0,006	0,1000±0,01	0,0280±0,003	0,0250±0,0027	0,0220±0,002	0,0260±0,003
Стронций (Sr)	46,7000±3,2	20,8000±1,8	18,4000±1,1	52,0000±4,3	46,3000±2,3	49,4000±2,6
Сурьма (Sb)	0,0740±0,007	0,0360±0,003	0,0340±0,003	0,0790±0,007	0,0190±0,001	0,0450±0,003
Талий (Tl)	0,2300±0,02	0,0500±0,005	0,0570±0,006	0,0460±0,005	0,0530±0,005	0,0051±0,0005
Тантал (Ta)	0,0810±0,008	0,0490±0,004	0,0100±0,001	0,0480±0,004	0,0057±0,0005	0,1200±0,01
Тербий (Tb)	0,6800±0,06	0,0260±0,002	0,0110±0,001	0,0420±0,003	0,0068±0,0006	0,0088±0,0007
Титан (Ti)	322,0000±30	327,0000±31	78,5000±8	208,0000±19	31,8000±3,1	22,3000±2,1
Торий (Th)	0,6600±0,06	0,2600±0,02	0,1400±0,01	0,4800±0,04	0,1000±0,01	0,0700±0,008
Тулий (Tm)	0,0330±0,002	0,0160±0,001	0,0063±0,0006	0,0190±0,001	0,0022±0,0002	0,0035±0,0003
Уран (U)	0,1900±0,02	0,1000±0,01	0,0300±0,003	0,1000±0,01	0,0210±0,002	0,0750±0,006
Хром (Cr)	7,6500±0,5	4,0700±0,3	2,0800±0,1	12,3000±1,1	3,8100±0,4	5,2400±0,5
Цезий (Cs)	0,3800±0,03	0,1500±0,01	0,0710±0,007	0,2700±0,02	0,1200±0,01	0,0680±0,006
Церий (Ce)	4,7600±0,3	2,2800±0,2	1,1000±0,1	3,2000±0,3	0,5300±0,05	0,5400±0,05
Цинк (Zn)	43,2000±4,1	29,5000±2,5	62,2000±6,1	21,8000±1,8	16,1000±1,3	26,4000±2,2
Цирконий (Zr)	14,2000±1,2	13,2000±1,1	2,9500±0,2	7,7800±0,7	0,6800±0,06	0,7300±0,07
Эрбий (Er)	0,2000±0,02	0,1000±0,01	0,0360±0,003	0,1200±0,01	0,0130±0,001	0,0240±0,002

Eu, Yb, Y, La, As, Nd, Ni, Sn, Pr, Sm, Ag, Sb, Ta, Tb, Tm, U, Ce, Zn, Er) и (19) в закарпатском (Al, Ca, Mg, P, Ba, B, V, Ga, Fe, Co, Lu, Mn, As, Nb, Pb, Tl, Ti, Th, Cs) образцах. После выявления максимумов и минимумов накопления отдельных элементов проанализировали вторые после них значения. При этом оказалось, что больше всего (28) вторых значений после максимальных содержалось в запорожском образце валерианы холмовой (Be, V, Bi, W, Gd, Ho, Dy, Eu, Fe, Y, I, Co, La, Li, Lu, Mo, As, Nd, Pr, Sm, Pb, Tb, Th, Tm, U, Cs, Ce, Er) и (14) в запорожском образце в. аптечной (Al, Na, Br, Hf, Yb, Mn, Ni, Se, Ag, Sb, Ta, Ti, Cr, Zn). Вторых значений после минимальных отмечено больше всего (23) в закарпатском образце (K, Si, Be, Br, Bi, Gd, Hf, Ge, Ho, Dy, Eu, Yb, Y, La, Nd, Ni, Pr, Sm, Tm, U, Ce, Zn, Er).

Из результатов исследований следует, что максимальные и вторые после них значения большинства анализируемых элементов содержались в запорожских образцах (в. аптечная, в. холмовая), а минимальные – в кавказском (в. Гроссгейма) и закарпатском (в. бузинолистная) образцах.

В экологическом отношении кадмием наиболее за-

грязнена в. бузинолистная, мышьяком, ртутью, свинцом – в. аптечная и в. холмовая, что обусловлено, возможно, не столько видовой принадлежностью образца, сколько местом его сбора, в частности, в Запорожье, крупном промышленном центре, и его окрестностях, что ранее отмечали для культивируемой валерианы [5].

Выводы

В результате масс-спектрометрического определения элементного состава корневищ с корнями валерианы аптечной (*Valeriana officinalis* L. s. str.), в. холмовой (*V. collina* Wallr.), в. бузинолистной (*V. sambucifolia* Mikan. fil.) и в. Гроссгейма (*V. grossheimii* Worosch.), собранных в Запорожье, Смеле, в сельской местности (Ивановская обл.), в горах Кавказа и Карпат, отмечено наличие 61 элемента, третью часть которых составляли эссенциальные и условно эссенциальные.

Установлено, что накопление отдельных элементов обусловлено местом сбора анализируемого образца.

Обнаружено, что концентрации большинства элементов, в том числе техногенных, в сырье из городских территорий выше, чем из сельской местности и особенно из горных массивов.

Список литературы

1. Валериана в фитотерапии / Н.С. Фурса, А.А. Зотов, С.Е. Дмитрук, С.Н. Фурса. – Томск: Изд-во НТЛ, 1998. – 212 с.
2. Валериана и болезни сердечно-сосудистой системы / Н.С. Фурса, А.А. Каракин, С.Н. Соленникова – Ярославль: Траст, 2006. – 564 с.
3. Валерианотерапия нервно-психических болезней / Н.С. Фурса, Е.А. Григорьева, С.Н. Соленникова и др. – Запорожье: Изд-во «ИВЦ с/х», 2000. – 348 с.
4. Ворошилов В.Н. Лекарственная валериана / Ворошилов В.Н. – М.: Изд-во АН СССР, 1959. – 160 с.
5. Горбунов Ю.Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств / Горбунов Ю.Н. – М.: Наука, 2002. – 208 с.
6. Изучение элементного состава корневищ с корнями культивируемой в Воронежской области валерианы в сравнении с образцами сырья из других мест выращивания / Н.С. Фурса, Д.С. Круглов, П.Ю. Шкроботько и др. // Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия. Химия, биология, фармация. – 2010. – №2. – С. 158–163.
7. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: Методические указания (МУК 4.1.1483-03). – М.: ФЦ ГСЭН МЗ РФ, 2003. – 36 с.

Сведения об авторах:

Панченко С. В., ст. лаборант каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники ЗГМУ.

Соленникова С.Н., врач ГУЗ ЯО Детской поликлиники №3.

Горохова Т.А., доцент каф. фармакогнозии и фармацевтической технологии ЯГМА.

Круглов Д.С., ст. преподаватель каф. фармакогнозии и фармацевтической технологии ЯГМА.

Корниевская В.Г., доцент курса ботаники ЗГМУ.

Корниевский Ю.И., доцент, зав. курсом ботаники ЗГМУ.

Фурса Н.С., д. фарм. н., профессор, зав. каф. фармакогнозии и фармацевтической технологии ЯГМА.

Надійшла в редакцію 11.06.2012 р.



Н.С. Фізор, К.В. Тарасова

Вивчення цілющих властивостей вітчизняних лікувальних грязей і перспективи створення нових лікарських форм на їх основі

Одеський державний медичний університет

Ключові слова: пелоїди, лікарські форми, сировина, терапевтична дія.

Ключевые слова: пелоиды, лекарственные формы, сырье, терапевтическое действие.

Key words: peloids, dosage forms, raw materials, the therapeutic effect.

У результаті вивчення терапевтичної дії лікувальних грязей (пелоїдів), а також аналізу фармацевтичного ринку препаратів в Україні обґрунтовано перспективність використання вітчизняних лікувальних грязей для створення нових бальнеологічних лікарських препаратів з широкою терапевтичною дією. Результати розпочатих досліджень відкривають перспективи подальшої роботи над розробкою ефективної технології лікарських форм на основі пелоїдів, а також для розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів.

В результате изучения терапевтического действия лечебных грязей (пелоидов), а также анализа фармацевтического рынка препаратов в Украине обоснована перспективность использования отечественных лечебных грязей для создания новых бальнеологических лекарственных препаратов с широким терапевтическим действием. Результаты начатых исследований открывают перспективы для дальнейшей работы над разработкой эффективной технологии лекарственных форм на основе пелоидов и расширения ассортимента отечественных лекарственных средств.

A study of the therapeutic effect of medicinal mud (peloid), as well as the analysis of drugs in the pharmaceutical market of Ukraine, was justified prospects of using domestic medicinal mud to create new balneological drugs with a wide therapeutic effect. The results of studies have enabled further work of developing effective technology-based dosage forms of peloids and offer new prospects for expanding the range of domestic medicines.

Створення нових вітчизняних лікарських засобів, що характеризуються широким спектром терапевтичної дії та здатністю підвищувати захисні системи людини, особливо в екологічно несприятливих умовах, є однією з найактуальніших задач сучасної фармації. Особливого значення набувають лікарські та лікувально-профілактичні засоби біогенної природи, одним із джерел отримання яких є пелоїди (лікувальні грязі) [8].

За даними наукової літератури відомо, що лікувальні грязі виявляють високу біологічну активність і майже не викликають алергічних реакцій [1]. Перевагою грязьових препаратів є те, що за ефективністю вони не поступаються грязям нативним, можливе їх широке використання в поєднаних процедурах з різними фізичними факторами, вони зручні для зберігання, транспортування й застосування при лікуванні захворювань запального характеру, хронічних захворювань печінки і жовчних шляхів, захворювань і травм суглобів, остеохондрозу хребта з неврологічними проявами, хвороб бронхо-легеневої системи та багатьох інших захворювань [7].

Грязьові препарати застосовують для компресів, зрошень, полоскань, мікроклізм, інгаляцій, підшкірних і внутрішньом'язових ін'єкцій. Особливо в країнах СНД, вони широко використовуються в методиках електро- і фонофорезу. За даними академіка В.І. Філатова (1931 р.), екстракти лікувальних грязей мають такі ж цілющі властивості, що і тканинні препарати [8].

Дослідження, спрямовані на бережливе використання вітчизняних грязьових сировинних ресурсів і отриман-

ня на їх основі ефективних лікувальних і косметичних засобів, є надзвичайно актуальним.

Мета роботи

Вивчення хімічного складу природних джерел лікувальних грязей України, аналіз асортименту сучасних вітчизняних та іноземних лікарських засобів на основі пелоїдів, а також перспектива розробки нових лікарських форм на основі вітчизняних грязьових сировинних ресурсів.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження були інструкції для медичного застосування лікарських засобів на основі пелоїдів, довідник лікарських засобів України, Державний формуляр лікарських засобів, наукові статті, маркетингові дослідження препаратів, представлених на вітчизняному та іноземному ринку. З метою дослідження джерел сировини для розробки нових пелоїдних препаратів в Україні вивчено сульфідно-ілову грязь «Куяльник», грязь Сакського озера та вулканічну (сопочну) грязь Керченського півострова.

Результати та їх обговорення

Лікувальні властивості грязей зумовлені, в основному, їх трьома компонентами. До них належать: 1) нерозчинна частина – грязьовий скелет (кристалічні солі кальцію та магнію, глинисті та піскові частинки); 2) розчинна частина, чи грязьовий розчин, який складається з води та розчинних солей мінеральних та органічних кислот, що утворюються за рахунок розкладання рослин та мікроорганізмів; 3) колоїдний комплекс (гумус, органічні речовини) [12].

Сульфідні Куяльницькі грязі за лікувальними властивостями є еталонними [9]. До їх складу входять леткі амінні основи, органічні кислоти (оцтова, смоляна, гумінова), вуглеводні, солі жирних кислот, хлорофіл, ароматичні похідні, сірководень, метан, вуглекислий газ, пеніциліно- та стрептоміциноподібні антибіотики, речовини, за структурою схожі з жіночими статевими гормонами (фолікулін, синестрол), більш ніж 15 мікроелементів, а також доволі складний мікробний склад [4]. Куяльницька грязь має високу мінералізацію (до 400 г/л). На скелет цих грязей припадає до 45% їх об'єму, представлений силікатними та карбонатними солями. Сумарний вміст гумінових кислот і гуміну в пелоїдах становить 60–70% від загальної кількості гумінових сполук. рН нативної грязі – 7,6–7,79, вода – 54,3%, силікатні частинки – 22,9%, сума колоїдів – 37,1% [5]. Унікальний склад грязі дозволяє без хірургічного втручання ефективно лікувати захворювання опорно-рухового апарата (артрози, подагра), центральної та периферичної нервової системи (радикуліти, неврози), гінекологічні хвороби (безпліддя), захворювання бронхо-легеневої системи (бронхіт, хронічна пневмонія), очей (глаукома, бельмо рогівки), ЛОР-органів (синусит, риніт), шкіри (псоріаз, екзема) [2]. На основі Куяльницької грязі в Україні виробляють «Пелодекс», грязьова маска «Чорна перлина», «Чорна Орхідея» (виробник ТОВ «Дальк») [5], виробляють «Пелоїдодистилят» (виробник ООО «Біостимулятор», м. Одеса) [4].

Широко використовують Сакську грязь, що містить унікальну комбінацію органічних (феноли, алкілфеноли, пеніциліноподібні речовини) та неорганічних (натрій, калій, кальцій, магній, залізо, літій, фтор) сполук, вітаміни, ліпіди, амінокислоти, сірководень, гідроліт заліза. Скелет грязі складається з силікатних частинок, де трапляються карбонати та фосфати кальцію. Для цієї грязі характерна невисока мінералізація та значна кількість води (60–70%) [13]. Сакська грязь широко використовується при захворюваннях опорно-рухового апарата, хвороб чоловічої статевої системи (простатит, гормональна недостатність), стоматологічних і дерматологічних захворюваннях, для профілактики целюліту, у вигляді пілінгу в процесі косметологічних процедур, а також для лікування захворювань прямої кишки (проктит, парапроктит) [2]. В Україні виробляють такі препарати: грязьовий препарат «Біоль», мінеральний бальзам «Фіто-Біоль», косметична маска «Гея», аплікації з грязю Сакського озера, натуральне мило з Сакською грязю (виробник Сакська гідрореологічна станція, Автономна республіка Крим, м. Саки) [13].

У косметології ефективно використовують маски на основі вулканічної грязі. Сопочна грязь містить легко засвоювані шкірою мінерали, органічні сполуки (гумінові, кремнієві кислоти, смоли), залізопорфірини, ферменти окислювального ряду (каталаза, уреаз, дегідрогеназа), антиоксиданти, олії. Грязьовий розчин містить великі концентрації йоду (до 80 мг/л), бром (до 170 мг/л), бору (100 мг/л). Його мінералізація до-

ходить до 28 г/л, рН менше 8 [13]. Косметична маска на основі вулканічної грязі «Гея» (виробник Сакська гідрореологічна станція, Автономна республіка Крим, м. Саки) активує мікроциркуляцію крові, обмін речовин, добре очищує та загоює епідерміс. Рекомендована для лікування вугрового висипу, фурункульозу [10].

Дуже широко використовуються і мають великий асортимент лікарські засоби на основі грязей і мінералів Мертвого моря. Вітчизняні грязі за хімічним складом і лікувальними властивостями не поступаються грязям Мертвого моря. За даними порівняльного аналізу біологічно активних речовин у зразках лікувальних грязей Сакського озера і Мертвого моря, виконаного спеціалістами Харківського університету ім. Карамзіна, встановлено, що кількість вітамінів у грязях Сакського озера вища у 10 разів, кількість ліпідів та амінокислот перевищує їх вміст у грязях Мертвого моря у тричі [3]. Наведені результати свідчать про високу ринкову конкурентоспроможність і цінність грязьових лікарських препаратів з вітчизняної сировини.

За даними власних досліджень, в Україні виробляється тільки 5% асортименту вітчизняних лікарських засобів на основі лікувальних грязей від загального асортименту існуючих пелоїдних препаратів на фармацевтичному ринку.

Вивчено іноземний ринок лікарських засобів на основі лікувальних грязей. Препарати з сировини Мертвого моря ізраїльських виробників Sea of Spa, Ahava, Premier, Health & Beauty, Dead Sea Minerals відомі на ринку грязьових препаратів і використовуються для лікування широкого спектра захворювань. Випускають такі лікувально-косметичні засоби, як Dermud крем для ніг, рук, тіла; пілінг грязьовий для обличчя (виробник Ahava); зволожуючий крем для нормальної та жирної шкіри; гель ніжний очищаючий для шкіри обличчя (виробник Premier); легкий зволожуючий крем на грязьовій основі, натуральна грязь з ароматичними маслами (виробник Sea of Spa); грязьове мило (Health & Beauty) та багато інших препаратів. Наведені приклади не вичерпують лікувальний потенціал ропи і пелоїдів, що визначає актуальність розробки нових лікарських препаратів на їх основі.

Висновки

1. У результаті дослідження встановлено, що вітчизняні лікувальні грязі завдяки унікальному складу є цінною сировиною для створення нових лікарських засобів з широкою терапевтичною дією.

2. Аналіз даних наукової літератури і матеріалів спеціалізованих аптекних видань дозволив зробити висновки про недостатньо широкий асортимент вітчизняних лікарських засобів на основі пелоїдів порівняно з іноземним асортиментом пелоїдних препаратів на українському ринку.

3. Результати розпочатих досліджень дають можливість для подальшої роботи над розробкою технології лікарської форми з досліджуваного виду сировини і відкривають нові перспективи для розширення асортименту вітчизняних пелоїдних лікарських засобів.

Список літератури

1. *Арсенин С.В.* Грязелечение и водные процедуры / Арсенин С.В. – Ростов-на-Дону: «Феникс», 2009.
2. *Вагнетова А.С.* Лечение препаратами из грязи / Вагнетова А.С. // Еженедельник «Аптека». – 2008. – №18. – С. 14–16.
3. *Вайсфельд Д.Н.* Лечебное применение грязей / Вайсфельд Д.Н., Голуб Т.Д. – К., 2009.
4. *Вальцов А.Н.* Современные технологии изготовления грязевых лекарственных средств / Вальцов А.Н., Гнесо В.С., Мадьярев И.О. // Общественная фармация в мире. – 2004. – №6. – С. 13–14.
5. *Вириго Л.А.* Исследования целебных лиманов и грязей / Вириго Л.А. – Одесса: Бальнеологическое общество, 1980. – 36 с.
6. Грязевые препараты, производимые компанией «Дальк» – Режим доступа: <http://kuyalnik-pelodex.com.ua/>.
7. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 1-е вид.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
8. *Деримедведь Л.В.* Рациональное применение грязей / Деримедведь Л.В., Загорий Г.В. // Журнал «Фармакология». – 2002. – №1. – С. 20–22.
9. *Лесницкий А.В.* Новые возможности лечебных грязей / Лесницкий А.В. // Журнал «Поликлиника». – 2009. – №3. – С. 70–80.
10. Лечебные грязи (пелоиды) Украины / Под ред. М.В. Лободы, К.Д. Бобова, Т.А. Золотаревой, Е.М. Никепеловой. – К.: Купріянова Е.А., 2006. – 320 с.
11. *Маньнина Н.В.* Санаторно-курортное лечение болезней кожи / Маньнина Н.В., Севрюгова В.С., Соловьев А.М., Кулешова Л.М. // Медицинский совет. – 2008. – №2. – С. 25–34.
12. *Машиковский М.Д.* Лекарственные средства: Пособие для врачей: В 2 т. – Харьков: Торсинг, 2007. – Т. 1. – 560 с.; Т. 2. – 592 с.
13. *Нечипуренко О.Н.* Грязи – природные биогенные стимуляторы, механизмы целебного действия / Нечипуренко О.Н. // Провизор. – 2008. – №2. – 68 с.
14. *Холопов А.П.* Грязелечение / Холопов А.П., Шашель В.А., Перов Ю.М., Настенко В.П. – Р-на-Д: газетное изд-во «Периодика Кубани», 2002. – 284 с.
15. Encyclopedia of pharmaceutical technology / Ed. by I.Swarbrick. – NY: Informa Healthcare USA, Inc., 2007. – 4372 p.
16. European Pharmacopoeia. – 5-th ed. – Strasbourg: European Department for Quality of Medicines, 2005. – 2781 p.

Відомості про авторів:

Фізор Н.С., к. фарм. н., доцент, зав. каф. технології лікарських засобів ОНМедУ.

Тарасова К.В., студентка 3 курсу фармацевтичного факультету ОНМедУ.

Надійшла в редакцію 08.06.2012 р.



Т.В. Хортецька, О.В. Мазулін, Г.П. Смойловська, Г.В. Мазулін

Вивчення вмісту вітаміну К у листі перспективних видів роду *Plantago L.* флори України у вегетаційний період

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова:

спектрофотометрія, подорожник середній, п. великий, п. найвищий, п. ланцетолистий, вітамін К₁, кровоспинна активність.

Ключевые слова:

спектрофотометрия, подорожник средний, п. большой, п. высочайший, п. ланцетный, витамин К₁, кровоостанавливающая активность.

Key words:

spectrophotometry, *Plantago media L.*, *P. major L.*, *P. altissima L.*, *P. lanceolata L.*, vitamin K₁, haemostatic action.

Методами ТШХ і спектрофотометрії у листі подорожника середнього, п. великого, п. найвищого, п. ланцетолистого в період цвітіння встановлено наявність вітаміну К₁. Найбільший вміст речовини встановлено у листі п. великого – до 10,64 ± 0,51%. Листя видів роду *Plantago L.* флори України перспективні для отримання препаратів кровоспинної дії.

Методами ТСХ і спектрофотометрії в листях подорожників середнього, п. більшого, п. высочайшого, п. ланцетного в період цвітіння встановлено присутність вітаміну К₁. Наибольшее содержание вещества установлено в листьях п. великого – до 10,64 ± 0,51%. Листья видов рода *Plantago L.* флоры Украины перспективны для получения препаратов кровоостанавливающего действия.

The contents of vitamin K₁ was revealed in *Plantago L.* genus leaves by liquid chromatography and spectrophotometry methods. Maximal contents of vitamin K₁ sum 10,64 ± 0,51% was revealed in *Plantago major L.* leaves. The leaves of *Plantago L.* genus are perspective as haemostatic preparations.

Родина подорожникові (*Plantaginaceae*) включає 3 роди та до 265 видів, поширених у помірних областях Землі. Це у більшості багаторічні або однорічні трави, іноді куші.

Рід подорожник (*Plantago*) є найбільшим у родині та нараховує до 200 видів, що зростають у країнах з помірним кліматом і лише окремі – у тропіках. Інший рід подорожникових – побережник (*Littorella*), – нараховує 3 види, поширених в Європі, на островах Атлантичного океану та в помірній кліматичній зоні Південної Америки. Монотипний рід Бугієра (*Bougueria*), є ендемічним для Анд Південного Перу, Болівії та Північної Аргентини.

Рослини роду *Plantago L.* зазвичай мають черешкові листя, зібрані у прикореневу розетку. Кореневище коротке, обсажене тонким корінням. Квітконоси прямостоячі, безлисті. Квіткові стебла зазвичай гіллясті, облиствені. Квітки дрібні, непоказні, зібрані в густий кінцевий колос або голівку. Плід – коробочка. Для більшості видів роду при розмноженні характерне вітрозашпилення.

Подорожники зростають вздовж доріг, навколо ставків, річок, на засмічених вологих місцях, у степах, на луках. Частіше трапляються на піскових ґрунтах.

На території сучасної Європи розповсюджено до 70 видів рослин, з яких в Україні та Росії ідентифіковано понад 20 [5,11,13,15,18]. Подорожник великий, ланцетолистий, блошиний у деяких країнах світу вирощують як культивовані рослини. В Україні мають достатню сировинну базу та суттєве господарське значення *P. media L.* (п. середній), *Plantago major L.* (подорожник великий), *P. lanceolata L.* (п. ланцетолистий), *P. altissima L.* (п. найвищий) [6,8,12].

У хімічному складі листя подорожника великого та п. ланцетного ідентифіковано вітаміни К і С, полісахариди, флавоноїди, каротиноїди, дубильні речовини, слизи, органічні кислоти, гіркоти, іридоїди [5,6,11,13,19,20]. Інші види роду на сьогодні вивчено мало.

Подорожники широко застосовують у формі настою (1:10) у народній і офіційній медицині багатьох країн

світу, насамперед у якості кровоспинних засобів. Загальновідомо, що листя цих рослин прикладають до ран для швидкого загоєння, а також для витягування гною. Встановлено також виражену протизапальну і ранозагоюючу дію [19].

Нині рідкі та сухі екстракти з рослинної сировини видів родів *Plantago L.* та *Psyllium Mill.* призначають у складі комплексних фітопрепаратів протизапальної, ранозагоюючої та відхаркувальної дії: «Плантаглюцид», «Сік подорожника», «Гербіон», «Сироп з подорожником від кашлю, Доктор Тайсс», «Сироп від кашлю з подорожником та підбілом», «Подорожнику настойка», «Прополіс бальзам», «Кліофіт», «Стоптусин-фіто», «Евкабал», «Ехінасал» тощо [10,14].

Вітаміни – це низькомолекулярні органічні сполуки різноманітної хімічної структури, необхідні для нормальної життєдіяльності живих організмів. Синтезуються вітаміни переважно рослинами та частково мікроорганізмами. Організм людини та тварин більшість вітамінів не синтезує або синтезує у недостатній кількості. У наш час відомо близько 30 вітамінів, з яких до 20 надходять в організм людини з рослинною та тваринною їжею. Вітаміни мають високу біологічну активність і потрібні організму в невеликій кількості – від декількох мікрограмів до десятків міліграмів на добу [1,3,10,14].

Вітамін К – жиророзчинний продукт синтезу зелених рослин і бактерій, що виявляє протигеморагічну дію. Існують дві основні групи природного вітаміну К: К₁ (філохінон, 2-метил-3-фітил-1,4-нафтохінон), що містять рослини, та К₂ (менахінон), що є продуктом синтезу мікроорганізмів. Крім природних вітамінів К, відомий ряд похідних нафтохінону, отриманий синтетичним шляхом. До них належать вітамін К₃ (2-метил-1,4-нафтохінон), вітамін К₄ (2-метил-1,4-нафтогідрохінон), вітамін К₅ (2-метил-4-аміно-1-нафтогідрохінон), вітамін К₆ (2-метил-1,4-діамінонафтохінон), вітамін К₇ (3-метил-4-аміно-1-нафтогідрохінон) [3,9].

Вітамін К₁ досить широко розповсюджений у рослинній сировині, з якої найчастіше застосовуються в медицині: деревій звичайний, кропива дводомна, грицики звичайні, кукурудзяні рильця, листя люцерни, ламінарія, овес, плоди шипшини, листя шпинату [5,6,11,13,17].

Природні вітаміни групи К потрапляють до організму людини з їжею або фітопрепаратами з лікарських рослин, частково синтезуються нормальною мікрофлорою кишечника. Вони необхідні для нормального утворення в печінці білків плазми крові: протромбіну, проконвертину, факторів Крісмасу та Стюарта. При нестачі вітаміну К в організмі синтезуються дефектні молекули протромбіну, які не здатні зв'язувати іони кальцію [3,9,22].

Вітамін К бере участь в утворенні інших білків, що зв'язують кальцій. Вітамін К каталізує утворення остеокальцину, посилює синтез альбуміну, ферментів травлення (пепсину, трипсину, ліпази, амілази), нейтралізує дію кумарину, афлотоксинів [3,21]. Добова потреба у вітаміні К дорослої людини (до 80 мкг) значно збільшується при гепатитах, цирозі печінки, захворюваннях кишечника, кровотечах, при тривалому застосуванні антибіотиків і сульфаніламідних препаратів [3,22].

Виявлено позитивний вплив вітаміну К на ендотелій матки у вагітних жінок. Величезну роль відіграє цей вітамін у формуванні кісткової тканини у немовлят, а його нестача зумовлює розвиток геморагічного синдрому з кровотечами з рота, носа, пупка, сечових шляхів [9,21].

Стрімкий розвиток хімії сприяв створенню синтетичних препаратів, похідних нафтохінону, що характеризуються різною здатністю запобігати кровотечам. Проте останнім часом їх ефективність підлягає сумніву, особливо в порівнянні з природним вітаміном К₁ і лікарськими засобами рослинного походження, що проявляють різноманітну протигемороїдальну дію на клітинному рівні.

До сьогодні практично не вивчено накопичення вітаміну К₁ у перспективних видах роду *Plantago L.*, що зростають в Україні й відомі вираженою кровоспинною дією.

Мета роботи

Вивчення накопичення вітаміну К₁ у листі подорожника середнього, п. великого, п. ланцетолистого, п. найвищого у вегетаційний період для отримання препаратів кровоспинної дії.

Матеріали і методи дослідження

Рослинну сировину (листя) заготовлено в різних регіонах України в період цвітіння (червень – липень 2011 р.). Сушіння проводили у сушільній шафі при температурі не більше 40°C.

Для ідентифікації вітаміну К₁ у листі досліджуваних видів роду *Plantago L.* використовували метод ТШХ на пластинках «*Silufol UF-254*» у системі розчинників бензол: петролейний ефір (1:1).

Наважку (1,0 г) подрібненої рослинної сировини до діаметру частинок 1 мм поміщали в колбу ємністю 15 мл, додавали 10 мл гексану і перемішували на механічному струшувальному пристрої протягом 3 год, фільтрували, розчинник відганяли на роторному випарнику за тем-

ператури не вище 45°C до об'єму 2–3 мл. 0,1 мл витягу наносили на смугу на пластину «*Silufol UF-254*». Пластинку підсушували на повітрі 3–5 хв і хроматографували. Висушували на повітрі протягом 2–3 хв і витримували в УФ-світлі протягом 2 хв. На пластинці з'являлась пляма з жовто-зеленою флуоресценцією, що свідчила про наявність вітаміну К₁ (R_f= 0,67). Паралельно вимірювали R_f РСЗ синтетичного аналогу вітаміну К₁, препарату вікасолу 1%. При обприскуванні отриманих хроматограм 5% розчином фосфорно-молібденової кислоти спостерігали буро-цегляне забарвлення плям.

Кількісний вміст вітаміну К у рослинній сировині досліджуваних видів визначали методом спектрофотометрії [4,7,16]. Аналітичну пробу рослинної сировини подрібнювали до діаметру часток, що проходять крізь сито №10. Точну наважку (0,5 г) поміщали в конічну колбу ємністю 100 мл та екстрагували тричі по 25 мл розчином спирту етилового 70%, нагрівали на киплячому водяному огрівнику 15 хв. Гарячі витяги фільтрували у колбу ємністю 100 мл так, щоб сировина не потрапила на фільтр, який промивали 10 мл спирту етилового 70%. У гарячий витяг додавали 4 мл розчину свинцю ацетату 10%, нагріваючи на киплячому водяному огрівнику 3 хв до коагуляції осаду, охолоджували та фільтрували у мірну колбу ємністю 100 мл, додавали спирт етиловий 70% до позначки.

5 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу ємністю 50 мл і доводили спиртом етиловим 70% до позначки.

Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 230 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. У якості розчину порівняння використовували спирт етиловий 70%. Паралельно вимірювали оптичну густину РСЗ вікасолу 1%.

Таблиця 1
Вміст вітаміну К₁ у листі видів роду *Plantago L.*, заготовлених в Україні (червень – липень 2011 р.), ($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$), $\mu=6$

Вид, що заготовлено, місце збору	Кількісний вміст вітаміну К ₁ , %
<i>P. media L.</i> , Миколаївська обл., м. Нова Одеса	4,60±0,21
<i>P. media L.</i> , Херсонська обл., м. Новотроїцьк	5,40±0,29
<i>P. media L.</i> , Запорізька обл., смт. Кушугум	5,02±0,24
<i>P. major L.</i> , Дніпропетровська обл., м. Апостолово	9,86±0,43
<i>P. major L.</i> , Запорізька обл., с. Великий Луг	10,64±0,51
<i>P. major L.</i> , АР Крим, с. Слобода	9,75±0,43
<i>P. altissima L.</i> , Херсонська обл., с. Новоолексіївка	6,62±0,30
<i>P. altissima L.</i> , Дніпропетровська обл., м. Сінельниково	6,73±0,31
<i>P. altissima L.</i> , Донецька обл., м. Слав'янськ	6,35±0,30
<i>P. lanceolata L.</i> , АР Крим, м. Армянськ	5,82±0,26
<i>P. lanceolata L.</i> , Хмельницька обл., м. Волочинськ	5,69±0,25
<i>P. lanceolata L.</i> , Київська обл., м. Біла Церква	5,87±0,26

Результати та їх обговорення

Отримані дані вказують на вміст у досліджуваних зразках рослинної сировини видів роду *Plantago L.* суттєвих концентрацій вітаміну К₁. Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили методами математичної статистики із застосуванням пакету прикладної програми «Microsoft Office Excel 2003». Статистична обробка результатів хімічних експериментів здійснена за методикою Державної Фармакопеї України [2]. Визначено середнє арифметичне (\bar{x}) та стандартну помилку середнього арифметичного ($\Delta \bar{x}$). Достовірність отриманих відмінностей досліджуваних величин оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента. Достовірними вважали відмінності з рівнем значущості більше 95% ($p < 0,05$).

Вміст вітаміну К₁ був найбільшим у листі *P. major L.* і складав до 10,64±0,51%. В інших видах роду *Plantago L.* Відзначено нижчі концентрації вітаміну К₁: у листі *P. altissima L.* – до 6,73±0,31%, *P. lanceolata L.* – до

5,87±0,26%, *P. media L.* – 5,40±0,29%. Максимальне накопичення речовини спостерігали у період цвітіння рослин.

Кількісний вміст вітаміну К₁ у листі досліджуваних видів роду *Plantago L.* свідчить про перспективність використання рослинної сировини для отримання комплексних фітопрепаратів кровоспинної дії.

Висновки

1. Підтверджено наявність і кількісний вміст вітаміну К₁ у листі розповсюджених видів роду *Plantago L.* флори України в період цвітіння.

2. Найбільший вміст вітаміну К₁ спостерігали у листі *P. major L.* Залежно від місяця заготівлі концентрація речовини складала від 9,75±0,43% до 10,64±0,51%. Найменші показники характерні для листя *P. media L.* (від 4,60±0,21% до 5,40±0,29%).

3. Значний вміст вітаміну К₁ у листі досліджуваних видів роду *Plantago L.* свідчать про перспективність отримання комплексних фітопрепаратів кровоспинної дії.

Список літератури

1. Володимирець В.І. Біохімія рослин: Інтерактивний комплекс навчально – методичного забезпечення / Володимирець В.І. – Рівне: НУВГП, 2006. – 127 с.
2. Державна Фармакопея України. Доповнення 1. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
3. Зубаиров Д.М. Витамин свертывания крови / Д.М. Зубаиров // Соровский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7, вып. 9. – С. 9–13.
4. Кавтарадзе Н.В. Хроматоспектрофотометрический метод количественного определения витамина К₁ в листьях *Urtica dioica L.* / Н.В. Кавтарадзе, М.Д. Алания // Раст. Ресурсы. – 2002. – №4. – С. 118–120.
5. Кортиков В.Н. Полная энциклопедия лекарственных растений / В.Н. Кортиков, А.В. Кортиков. – Ростов н/Д.: Проф-Пресс, 2002. – 800 с.
6. Лікарські рослини: Енциклопедичний довід. / За ред. А.М. Гродзінського. – К.: Українська енциклопедія, 1992. – 543 с.
7. Мазулін О.В. Стандартизація лікарської сировини рослин роду деревій за вмістом вітаміну К / О.В. Мазулін, Н.О. Калошина // Фармац. журнал. – 1997. – №5. – С. 69–72.
8. Мінарченко В.М. Ресурси лікарських рослин в Україні / В.М. Мінарченко // Укр. ботан. журн. – 2000. – Т. 37, №1. – С. 21–26.
9. Момот А.П. Эффективность терапии непрямыми антикоагулянтами: роль содержания витамина К в пищевых продуктах / А.П. Момот, О.В. Беспалова, Е.Н. Воробьева // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2006. – №3. – С. 51–55.
10. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский – М.: ООО «Издательство Новая волна», 2002. – Т. 1. – 540 с.
11. Оленников Д.Н. Подорожник большой (*Plantago major L.*). Химический состав и применение / Д.Н. Оленников, А.В. Samuelsen, Л.М. Танхаева // Химия растит. сырья. – 2007. – №2. – С. 37–50.
12. Определитель высших растений Украины / [Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др.]; под ред. Ю.Н. Прокудина. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
13. Палов М. Энциклопедия лекарственных растений / Палов М.; пер. с нем., предисл. И.А. Губанова – М.: Мир, 1998. – 468 с.
14. Пронченко Г.Е. Лекарственные растительные средства / Под ред. А.П. Арзамасцева, И.А. Самылиной. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 288 с.
15. Рандушка Д. Цветовой атлас растений / Д. Рандушка, Л. Шемшак, И. Габерова. – Братислава: Обзор, 1990. – 411 с.
16. Смойловська Г.П. Спектрофотометричне визначення вітаміну К у траві видів роду *Achillea L.* / Г.П. Смойловська, О.В. Мазулін // Фармац. часоп. – 2007. – №1 (1). – С. 101–103.
17. Филиппова И.И. Смолин. – Минск: БГУ, 2004. – 136 с.
18. Цвелев Н.Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России. – СПб.: Изд-во СПУВА, 2000. – 781 с.
19. Samuelsen A.B. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* / A.B. Samuelsen // Journal of Ethnopharmacology. – 2000. – V. 71. – P. 1–21.
20. Samuelsen A.B. Isolation and parvition characterization of biologically active polysaccharides from *Plantago major* / A.B. Samuelsen, B.S. Paulsen, J.K. Wold // Carbohydrates Polymers. – 1996. – V. 30. – P. 37–44.
21. The growth inhibitory effect of vitamin K and their actions on gene expression / Z. Wang, M. Wang, F. Finn, B. Carr // Hepatology. – 1995. – Vol. 22, №3. – P. 876–882.
22. Vitamin K deficiency embryopathy: A phenocopy of warfarine embryopathy due to a disorder of embryonic vitamin K metabolism / H. Menger, A.E. Lin, H.V. Toriello [et al.] // American J. of Medical Genetics. – 1997. – Vol. 72, №2. – P. 129–134.

Відомості про авторів:

Хортецька Т.В., асистент каф. фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.
 Мазулін О.В., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.
 Смойловська Г.П., к. фарм. н., ст. викладач каф. фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.
 Мазулін Г.В., к. фарм. н., асистент каф. фармакогнозії, фармакології і ботаніки, ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 14.06.2012 р.



Д.М. Юрченко, К.В. Александрова, І.М. Білай, Є.С. Пругло, М.І. Романенко

Вивчення діуретичної активності естерів ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: естери ксантиніл-7-ацетатних кислот, естери ксантиніл-8-тіоацетатних кислот, діуретична активність.

Ключевые слова: эфиры ксантинил-7-ацетатных кислот, эфиры ксантинил-8-тиоацетатных кислот, диуретическая активность.

Key words: esters of xanthinyl-7-acetic acids, esters of xanthinyl-8-thioacetic acids, diuretic activity.

Показано доцільність використання діуретичних засобів для лікування артеріальної гіпертензії, вивчено діуретичну активність естерів ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот, а також встановлено певні закономірності в ряді «будова-дія».

Показана целесообразность использования диуретических средств для лечения артериальной гипертензии, изучена диуретическая активность эфиров ксантинил-7-ацетатных и ксантинил-8-тиоацетатных кислот, а также установлены некоторые закономерности в ряду «строение-действие».

The expedience of using diuretic drugs for treatment arterial hypertense and some diuretic activity of esters of xanthinyl-7-acetic and xanthinyl-8-thioacetic acids were showed in this article. studied. Some rules in «structure-action» relationships were set.

Заданими ВООЗ, патології серцево-судинної системи за поширеністю посідають перше місце в світі. Наймасштабніше рандомізоване дослідження, присвячене лікуванню пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ) ALLHAT (Antihypertensive and Lipid Lowering to prevent Heart Attack Trial) підтвердило, що діуретики як найдешевші та найефективніші засоби мають стати обов'язковим компонентом лікування артеріальної гіпертензії [1]. До того ж, ці дослідження показали, що діуретики запобігають розвитку інсультів. У дослідженні ALLHAT додаткове підтвердження знайшли відомі факти щодо ефективності та доброї переносимості діуретичних засобів у осіб похилого та старечого віку [2–4].

Крім того, діуретичні препарати мають важливе значення для лікування гіпертонічної хвороби, хронічної серцевої недостатності, при набряках, що спричинені затримкою натрію в організмі, глаукомі тощо. Нині арсенал діуретичних засобів включає широкий спектр препаратів: салуретики, калійзберігаючі діуретики, осмотичні діуретики (тріампур, гіпотіазид, модуретик [5]). На жаль, при їх застосуванні існують певні обмеження та протипоказання, а також часто розвиваються побічні ефекти: гіпохлоремічний алкалоз, гіпонатріємія, гіпокаліємія, що супроводжується слабкістю, запамороченням, головним болем, нудотою, метаболічним ацидозом, гіперкальціємією, гіперглікемією, гіперліпідемією, азотемією, алергічними реакціями тощо. Проте такі порушення виникають у досить малого відсотка людей, а користь перевищує можливий ризик.

Стимулюючи роботу серця, деякі похідні диметилксантину покращують гемодинаміку, в тому числі в нирках, й у такий спосіб збільшують клубочкову фільтрацію. Діуретичний ефект ксантинів зумовлений зменшенням реабсорбції Na^+ і Cl^- в проксимальних відділах нефрону. Зменшуючи гідрофільність тканин, ксантини збільшують об'єм плазми крові. Останнє призводить до розтягнення порожнистих вен, правого передсердя та рефлекторного гальмування секреції антидіуретичного гормону, що за-

безпечує швидке виведення рідини з організму. Отже, ксантинові діуретики належать до групи салуретиків та осмотичних діуретиків [6].

Ксантинова молекула є вигідним синтоном для подальшої хімічної модифікації шляхом введення різноманітних фармакоформних угруповань, оскільки вона міститься як у відомих природних (кофеїн, теобромін, теофілін), так і синтетичних лікарських засобах (трентал, дипрофілін, теокор, теофібрат тощо).

Усе зазначене зумовлює доцільність вивчення діуретичної активності раніше синтезованих естерів ксантиніл-7-ацетатної кислоти та ксантиніл-8-тіоацетатної кислоти [7,8].

Мета роботи

Дослідження діуретичної дії серед естерів ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот.

Матеріали і методи дослідження

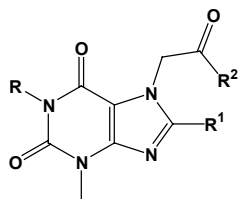
Температуру плавлення визначали відкритим способом на приладі ПТП (М). Елементний аналіз виконано на приладі Elementar Vario L cube. ІЧ-спектри знято на приладі Bruker-ALPHA, ПМР-спектри – на приладі Bruker SF-400 (розчинник ДМСО-*d*6 або ДМСО-*d*6 + CDCl_3 , внутрішній стандарт – ТМС). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим ($\pm 0,3$).

Для досягнення поставленої мети проведено синтез естерів ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот.

Сполуки I, II, III, IV, V, VI, X, XI, XII, XIII, XIV синтезовано за методом 1 [7], сполуки VIII, IX – за методами 2 і 3 [8].

Пропіловий і пентіловий естери 8-N-заміщених ксантиніл-7-ацетатної кислоти (XVII, VIII)

Суміш 3,1 г (0,01 моль) відповідного естеру 8-бромксантиніл-7-ацетатної кислоти, 4,0 мл бензиламіну або піперидину та 50 мл пропанолу-2 кип'ятять 4 год. Охолоджують, осад відфільтровують, промивають водою, фільтрат розбавляють водою, осад фільтрують і перекристалізують з суміші вода-етиловий спирт. Аналітичні дані сполук наведено в таблиці 1.



Фізико-хімічні властивості синтезованих речовин

Таблиця 1

№ з/п	R	R ₁	R ₂	Тпл.	Вихід, %	Емпірична формула
III	H	Br	OC ₂ H ₅	250-52	45,3	C ₁₀ H ₁₁ BrN ₄ O ₄
VII	H		OC ₅ H _{11-n}	158-59	51,0	C ₁₈ H ₂₇ N ₅ O ₄
XV	CH ₃	NHCH ₂ C ₆ H ₅	OCH ₃	153-54	66,3	C ₁₇ H ₁₉ N ₅ O ₄
XVI	CH ₃	NHCH ₂ C ₆ H ₅	OC ₂ H ₅	164-66	70,2	C ₁₈ H ₂₁ N ₅ O ₄
XVII	CH ₃	NHCH ₂ C ₆ H ₅	OC ₃ H _{7-n}	149-51	33,0	C ₁₉ H ₂₃ N ₅ O ₄
XVIII	CH ₃	N(CH ₃)CH ₂ C ₆ H ₅	OCH ₃	150-52	61,6	C ₁₈ H ₂₁ N ₅ O ₄
XIX	CH ₃	NHC ₆ H ₄ OCH ₃ -M	OC ₂ H ₅	158-60	73,0	C ₁₉ H ₂₂ N ₄ O ₅

Естери 8-N-заміщених 3-метилксантиніл-7-ацетатної кислоти (XV, XVI, XVIII, XIX)

До 0,01 моль відповідного 8-N-заміщеного 3-метилксантину додають 0,012 моль відповідного естеру, 0,84 г (0,01 моль) нагрій гідрокарбонату та 30 мл ДМФА. Кип'ятять 2 (XV, XVI, XIX) або 3 (XVIII) год. У гарячому вигляді фільтрують, розбавляють водою. Випадає осад, який відфільтровують, фільтрат промивають водою. Очищують перекристалізацією з водного етанолу (XVI, XIX) або водного пропанолу-2 (XV, XVIII). Аналітичні дані сполук наведено в таблиці 1.

Вивчення діуретичної дії отриманих сполук проводили за методом Є.Б. Берхіна [9] на безпородних щурах масою 160–210 г. Щурів отримано з розплідника «Інституту фармакології і токсикології» АМН України. Для дослідження сечогінної дії використовували серії тварин по 7 щурів у кожній групі. При дослідженні водного діурезу їх тримали на постійному раціоні харчування при вільному доступі до води. До водного навантаження тварин тримали протягом 2 год без їжі та води. Далі щурам вводили інтрагастрально за допомогою зонда досліджувані сполуки у вигляді водної суспензії одночасно з водним

Таблиця 2

Дослідження діуретичної активності синтезованих сполук

Сполука	R	R ₁	R ₂	Діурез через			
				2 год		4 год	
				(M±m), мл	У % до контролю	(M±m), мл	У % до контролю
I	H	H	OC ₃ H _{7-n}	2,53±0,248 ^а	69,80	4,67±0,353 ^а	95,40
II	H	H	OC ₃ H _{7-i}	1,93±0,273 ^а	29,53	4,11±0,315 ^а	71,97
III	H	Br	OC ₂ H ₅	1,66±0,107	11,41	2,44±0,090 ^а	2,09
IV	H	Br	OC ₃ H _{7-n}	2,59±0,398 ^а	73,83	4,10±0,252 ^а	71,55
V	H	Br	OC ₃ H _{7-i}	1,90±0,319 ^а	27,52	3,21±0,397 ^а	34,31
VI	H	Br	OC ₅ H _{11-n}	1,94±0,145 ^а	30,20	6,07±0,360	153,97
VII	H		OC ₅ H _{11-n}	1,76±0,113	18,10	3,04±0,241 ^а	27,20
VIII	H	SH	OC ₅ H _{11-n}	1,61±0,135	8,05	3,01±0,204 ^а	25,94
IX	H	SC ₂ H ₅	OC ₅ H _{11-n}	1,91±0,134 ^а	28,19	3,37±0,218 ^а	41,00
X	CH ₃	H	OCH ₃	1,80±0,143	20,81	3,96±0,226 ^а	65,69
XI	CH ₃	H	OC ₃ H _{7-n}	1,51±0,203 ^а	1,34	2,40±0,375	0,42
XII	CH ₃	H	OC ₃ H _{7-i}	3,26±0,476 ^а	118,79	6,26±0,440	161,92
XIII	CH ₃	Br	OCH ₃	2,09±0,103 ^а	40,20	4,01±0,576 ^а	67,78
XIV	CH ₃	Br	OC ₃ H _{7-i}	3,14±0,292 ^а	110,74	5,86±0,455 ^а	145,19
XV	CH ₃	NHCH ₂ C ₆ H ₅	OCH ₃	2,04±0,243 ^а	36,91	4,69±0,311 ^а	96,23
XVI	CH ₃	NHCH ₂ C ₆ H ₅	OC ₂ H ₅	1,21±0,199 ^а	-18,79	2,17±0,198 ^а	-9,21
XVII	CH ₃	NHCH ₂ C ₆ H ₅	OC ₃ H _{7-n}	2,30±0,582	54,36	4,87±0,497 ^а	103,77
XVIII	CH ₃	N(CH ₃)CH ₂ C ₆ H ₅	OCH ₃	1,87±0,314	25,50	4,21±0,471 ^а	76,15
XIX	CH ₃	NHC ₆ H ₄ OCH ₃ -M	OC ₂ H ₅	1,60±0,127	7,38	3,46±0,194 ^а	44,77
Контроль				1,49±0,053		2,39±0,063	
Гідрохлортіазид				2,20±0,172 ^а	47,65	3,91±0,213 ^а	63,59
Фуросемід				3,59±0,116	140,94	6,24±0,148 ^а	161,088

Примітка: * та & – достовірність результатів при p<0,05 та p<0,01 відповідно порівняно з контролем.

навантаженням у кількості 3 мл на 100 г ваги тіла тварини в дозі 30–50 мг/кг. У якості еталону порівняння використовували гідрохлортіазид і фуросемід у дозах 25 мг/кг та 20 мг/кг відповідно. Сечу збирали через кожні 2 години протягом 4 годин. Статистичну обробку [10] даних проводили з використанням стандартного пакету аналізу Microsoft Office Excel 2003, а також програми статистичної обробки результатів «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc. AXXR712D833214FAN5). Дані наведено у вигляді вибіркового середнього значення \pm стандартна помилка середнього значення. Достовірність різниць між експериментальними групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Результати досліджень наведено в таблиці 2.

Результати та їх обговорення

Структури всіх синтезованих сполук підтверджено ІЧ-, ПМР-спектроскопією, а індивідуальність – тонкошаровою хроматографією. Дослідження діуретичної активності дозволили встановити, що найактивнішими виявились такі сполуки: ізопропіловий естер теофілініл-7-ацетатної кислоти (сполука XII), аміловий естер 8-бром-3-метилксантиніл-7-ацетатної кислоти (сполука VI), ізопропіловий естер 8-бром-теофілініл-7-ацетатної кислоти (сполука XIV) і пропіловий естер 8-бензиламінотеофілініл-7-ацетатної кислоти (сполука XVII), що за показниками діуретичної активності перевищують ефект гідрохлортіазиду, а сполука 12 наближається за цим показником до показника фуросеміду.

Слід зазначити, що більшість синтезованих речовин проявляють діуретичну активність і перевищують еталон порівняння на 10–97%.

Появі діуретичної дії сприяє подовження бічного ланцюга молекули 3-метилксантину в 7 положенні (сполука VI). Розгалуження естерового радикалу 8-бромо-3-метилксантину сприяє зниженню активності порівняно з контролем (сполука V), а наявність етильного радикалу призводить до появи антидіуретичної дії. Заміна в положенні «8» атома бромової молекули на

залишок N-піперидину або сульфгідрильну групу призводить до різкого падіння сечовиділення (сполуки VII, VIII). Подовження вуглецевого ланцюга, що пов'язаний з атомом сульфуру, суттєво на діуретичний ефект не впливає (сполука IX).

При дослідженні діуретичного ефекту молекули теофіліну встановлено наступні тенденції: метиловий естер теофілініл-7-ацетатної кислоти (сполука X) проявляє майже однаковий ефект з еталонним препаратом. Аналогічний результат отримано при введенні в положення «8» атома бромової молекули. Введення нерозгалуженого пропільного залишку (сполука XI) сприяє появі антидіуретичної дії. Водночас ізопропільний радикал теофілініл-7-ацетатної кислоти та 8-бром-теофілініл-7-ацетатної кислоти (сполуки XII, XIV) призводить до підвищення сечовиділення, перевищує ефект гідрохлортіазиду на 98 і 81% відповідно та наближається до фуросеміду. Заміна атома галогену на залишок бензиламіну (сполука XV) призводить до підвищення сечовиділення, при цьому введення в положення «7» естерового залишку етильного радикалу зумовлює появу антидіуретичної дії (сполука XVI), нерозгалужений пропільний радикал, навпаки, підвищує діуретичний ефект на 41% порівняно з гідрохлортіазидом.

Висновки

Здійснено дослідження серед 19 сполук, що дозволили встановити певні закономірності в ряді «будова-дія» та підтвердили перспективність пошуку сполук з діуретичною активністю серед естерів ксантиніл-7-ацетатних і ксантиніл-8-тіоацетатних кислот.

Появі діуретичної дії сприяє наявність у положенні «8» ксантинової молекули атома бромової молекули або залишку бензиламіну, а також подовження вуглецевого радикалу в положенні «7».

Ізопропіловий естер теофілініл-7-ацетатної кислоти (сполука XII) виявляє найбільший діуретичний ефект, збільшує діурез на 61,92%, за дією перевершує ефект гідрохлортіазиду на 98% та наближається до ефекту фуросеміду.

Список літератури

- Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic (The antihypertensive and lipid lowering treatment to prevent heart attack trial – ALLHAT) // J. A. M. A. – 2002. – Vol. 288. – P. 2981–2997.
- Brown M.J. Morbidity and mortality in patients randomized to double-blind treatment with a long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine-GITS Study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT) / Brown M.J., Palmer C.R., Castaigne A. et al. // Lancet. – 2000. – Vol. 356. – P. 366–372.
- Chalmers J. All hats off to ALLHAT: a massive study with clear messages / Chalmers J. // J. Hypertension. – 2003. – Vol. 21. – P. 225–228.
- Kaplan N.M. The meaning of ALLHAT / Kaplan N.M. // J. Hypertension. – 2003. – Vol. 21. – P. 233–234.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства / Машковский М.Д. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005. – 1200 с.
- Глезер Г.А. Диуретики. Руководство для врачей / Глезер Г.А. – М.: Интербук-бизнес, 2003. – 386 с.
- Александрова К.В. Синтез та фізико-хімічні властивості естерів ксантиніл-7-оцтової кислоти / К.В. Александрова, Д.М. Юрченко, М.І. Романенко, О.О. Мартинюк // Запорізький медичний журнал. – 2010. – Т. 13, №1. – С. 7–10.
- Синтез, реакції та фізико-хімічні властивості похідних 8-тіоксантиніл-7-ацетатних кислот / Д.М. Юрченко, К.В. Александрова, М.І. Романенко [та ін.] // Акт. пит. фарм. і мед. науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, №3. – С. 104–108.
- Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим.-фарм. журн. – 1977. – Т. 11, №5. – С. 3–11.
- Зайцев В.М. Прикладная медицинская статистика: Учебное пособие / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И. Маринкин. – СПб.: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2006. – 432 с.

Відомості про авторів:

Юрченко Д.М., аспірант каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.
 Александрова К.В., д. хім. н., професор, зав. каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.
 Білай І.М., д. мед. н., професор, зав. каф. клінічної фармації, фармакотерапії і УЕФ ФПО ЗДМУ.
 Пругло С.С., асистент каф. клінічної фармації, фармакотерапії і УЕФ ФПО ЗДМУ.
 Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 20.06.2012 р.



Д.Я. Гаврилюк, С.В. Хирков, В.В. Атаманюк, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик

Синтез і протівірусна активність неконденсованих систем з тiazолідиновим, піразоліновим та ізатиновим фрагментами у молекулах

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Ключові слова: 4-тіазолідинони, піразоліни, антивірусна активність, молекулярний докінг.

Ключевые слова: 4-тиазолидиноны, пиразолины, противовирусная активность, молекулярный докинг.

Key words: 4-thiazolidinones, pyrazolines, antiviral activity, molecular docking.

На основі реакцій [2+3]-циклоконденсації, амінолізу та конденсації Кньювенегеля здійснено синтез нових 2(4)-піразолініл-4(2)-тіазолідинонів і проведено скринінг протівірусної активності *in vitro*, що обґрунтовано результатами попередніх досліджень структурно споріднених похідних 4-тіазолідинону. Спрямована хімічна модифікація сполук сприяла значному потенціюванню дії та розширенню векторів протівірусної активності в порівнянні з раніше описаними похідними 4-тіазолідинону з піразоліновим фрагментом. На основі детального аналізу отриманих результатів ідентифіковано високоактивні сполуки щодо вірусів грипу та окреслено ряд закономірностей у контексті «структура-протівірусна активність». З використанням *in silico* методу молекулярного докінгу встановлено ймовірний механізм реалізації протигрипозної активності сполук-хітів.

На основе реакций [2+3]-циклоконденсации, аминолита и конденсации Кньювенегеля осуществлен синтез новых 2(4)-пиразолинил-4(2)-тиазолидинонов, а также проведен скрининг противовирусной активности *in vitro*, что обосновано результатами предыдущих исследований структурно родственных производных 4-тиазолидинона. Направленная химическая модификация соединений способствовала значительному потенцированию действия и расширению векторов противовирусной активности по сравнению с ранее описанными производными 4-тиазолидинона с пиразолиновым фрагментом. На основе детального анализа полученных результатов идентифицированы высокоактивные соединения по отношению к вирусам гриппа и обозначен ряд закономерностей в контексте «структура-противовирусная активность». С использованием *in silico* метода молекулярного докинга установлен вероятный механизм реализации протигриппозной активности соединений-хитов.

Based on the [2+3]-cyclocondensation, aminolysis, and Knoevenagel condensation the synthesis of new 2(4)-pyrazoline-4(2)-thiazolidinones as well as screening of antiviral activity *in vitro* have been performed, that justified by the results of previous studies of structurally related 4-thiazolidinone derivatives. The directed chemical modification of compounds contributed to a significant action potentiation and the expansion of the vectors of antiviral activity compared with the previously described 4-thiazolidinone derivatives with pyrazoline fragment. Based on a detailed analysis of the results the highly active compounds on influenza viruses have been identified and SAR analysis has been carried out. The probable mechanism of anti-influenza activity of the hit-compounds have been proposed using *in silico* methods - molecular docking.

Одним із актуальних і перспективних напрямків фармакологічних досліджень гетерилзаміщених тіазолідинонів є пошук потенційних протівірусних агентів. Так, серед тіазолідинових 4-тіазолідонів ідентифіковано перспективний анти-ВІЛ агент з показником ефективної концентрації $EC_{50} = 0,26$ мкМ та низькими показниками цитотоксичності [1]. Названу активність також проявляють неконденсовані системи, що поєднують тіазолідиновий і піридиновий [2–4] чи піримідиновий [5–7] цикли. Крім того, для цієї групи сполук ідентифіковано ефективність щодо вірусів гепатиту С [8], Tabacco Mosaic [9], Vesicular stomatitis [10] тощо. Попередні дослідження дозволили встановити групову ефективність піразолінзаміщених тіазолідинонів стосовно вірусів грипу та коронавірусу SARS [11]. Тому спрямований пошук нових протівірусних засобів серед

зазначених неконденсованих систем є перспективним та обґрунтованим.

Мета роботи

Синтезувати, вивчити протівірусну активність *in vitro*, встановити закономірності кореляції «структура-активність» і провести *in silico* докінгові дослідження нових 2(4)-піразолінвісних 4(2)-тіазолідинонів.

Матеріали і методи дослідження

Для вивчення протівірусної дії отримано піразолініл-тіазолідинони 1.1–1.38 (рис. 1, схема 1), 2.1–2.7 (рис. 2, схема 2), 3.1–3.9 [12] і 4.1–4.17 [13,14]. Протівірусну активність синтезованих сполук вивчали методом високоефективного біологічного скринінгу в рамках міжнародної наукової програми AACF (Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility) Національного інституту алергічних та інфекційних хвороб (Бетезда, Меріленд, США) [15].

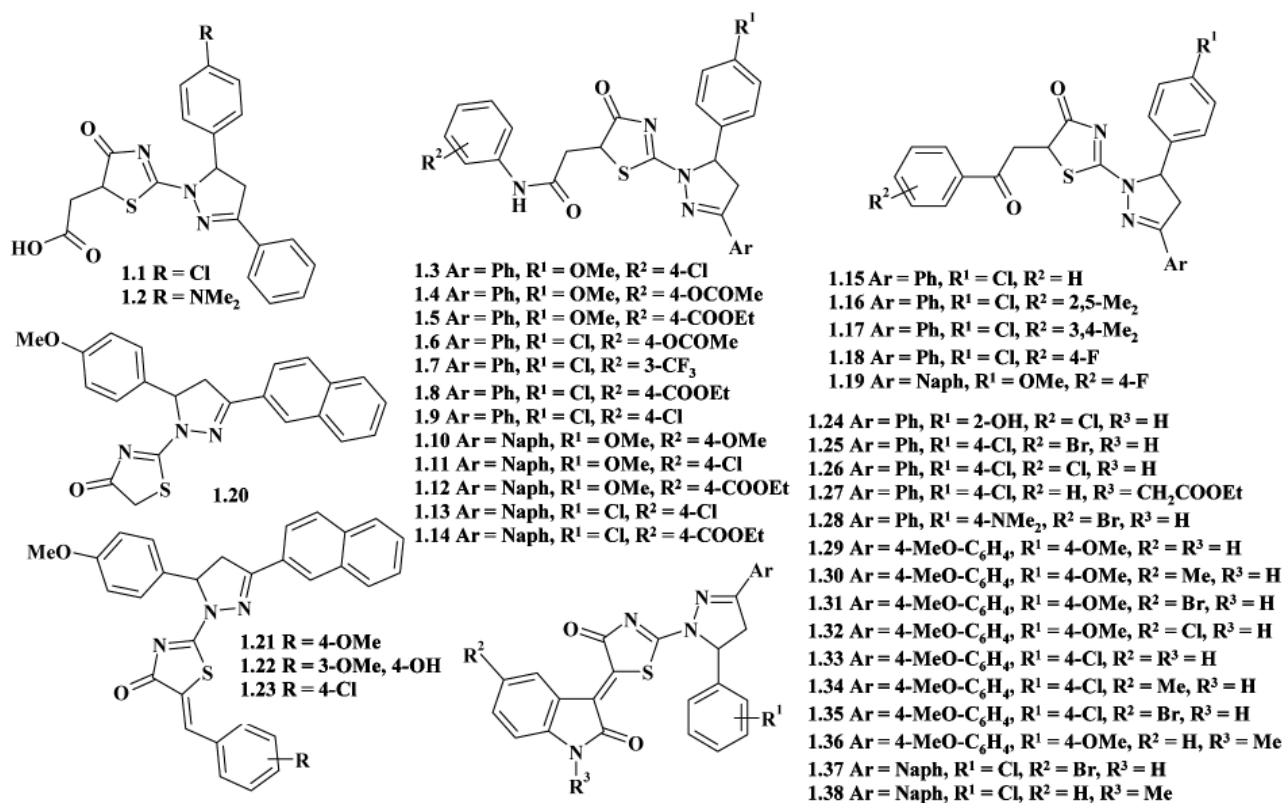


Рис. 1. 4-Тiazолідинони з піразоліновим фрагментом у 2 положенні.

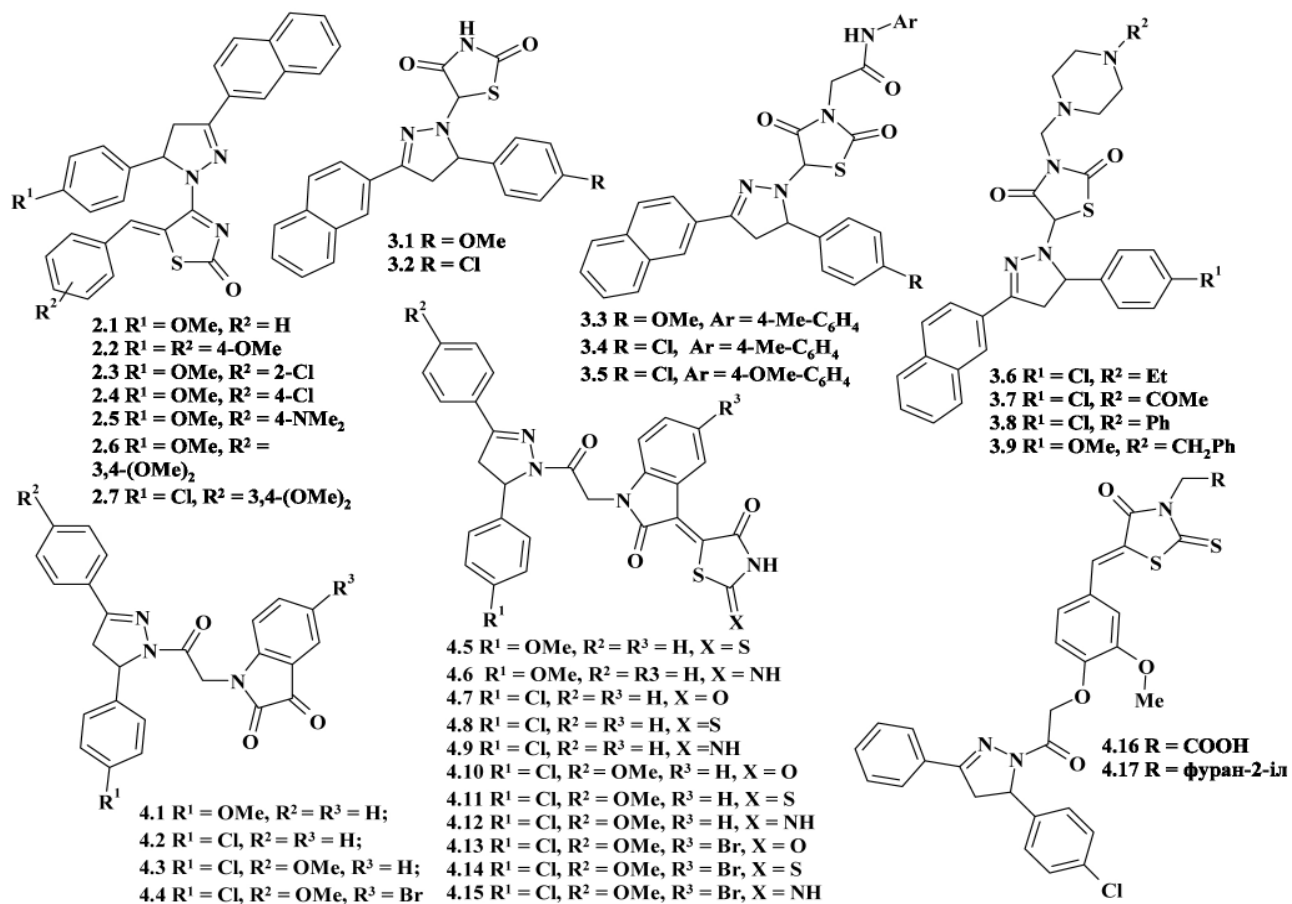


Рис. 2. 4- та 5-Піразолінзаміщені тiazолідинони та неконденсовані системи з тiazолідиновим, піразоліновим та ізатиновим фрагментами.

Молекулярний докінг [16,17] проведено з використанням програмного пакету *OpenEye* [18], що включає програми *Fred Receptor*, *Flipper*, *Babel*, *Omega2* та *Fred*. Вивчено піразолінзаміщені тiazолідини з встановленою противірусною дією та інші похідні 4-тіазолідину (з кодом *Les* в табл. 6), синтезовані нашою групою. Для структур розраховано скорингові функції *Chemgauss2*, *Chemscore*, *Chemgauss3*, *PLP*, *Screenscore*, *Shapegauss*, *CGO*, *CGT*, *OEChemscore* і *Consensus*, що оцінюють певні характеристики комплексу ліганд-протеїн і вказують на можливість їх зіставлення.

Результати та їх обговорення

[2+3]-Циклоконденсацією [11] 3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-карботіоамідів з малеїновим ангідридом, арилмалеїнімідами та β-ароїлакриловими кислотами отримано 2-піразолін-4-тіазолідин-5-оцтові кислоти **1.1–1.2**, їх аміди **1.3–1.14** та 2-[3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-іл]-5-(2-оксо-2-арилетил)-тіазол-4-они **1.15–1.19**, а взаємодією з монохлороцтовою кислотою

чи в умовах одnoreакторної («one-pot») реакції з монохлороцтовою кислотою та ароматичними альдегідами чи ізатинами – 5-незаміщений тiazолідинон **1.20** чи 5-іліденпохідні **1.21–1.38**, відповідно до схеми 1.

5-(4-Метокси(хлоро)феніл)-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідро-1*H*-піразолі [19] при взаємодії з 4-тіоксо-2-тіазолідином утворюють метиленактивні 4-(5-(4-метокси(хлоро)феніл)-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідро-1*H*-піразол-1-іл)-1,3-тіазол-2-они, що використано для синтезу серії 5-ариліденпохідних **2.1–2.7** в умовах реакції Кньовенагеля з ароматичними альдегідами (рис. 2, схема 2). Структуру синтезованих сполук підтверджено спектрами ¹H та ¹³C ЯМР.

Дослідження *противірусної активності* здійснювали з використанням стандартних методик на віруси грипу (*FluA* та *FluB*), коронавірус SARS, Такарібе (*Tacaribe*), вірус денге (*Dengue*, тропічної лихоманки), вірус лихоманки Ріфт-Валлі (*Rift Valley Fever Virus*), респіраторний синцитіальний вірус (*Respiratory Syncytial Virus*), вірус коров'ячої віспи (*Vaccinia*) та вірус венесуельського кінського енцефаліту (*Venezuelan Equine Encephalitis Virus*).

Схема 1

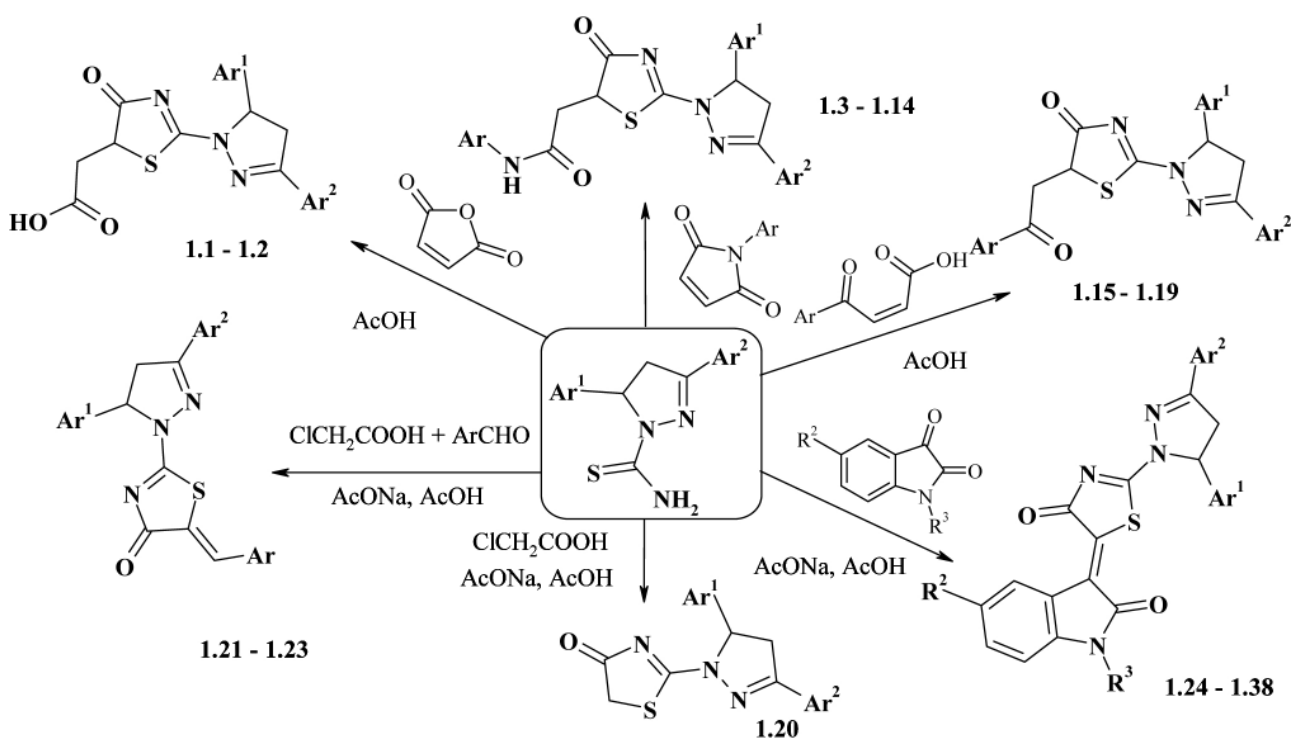
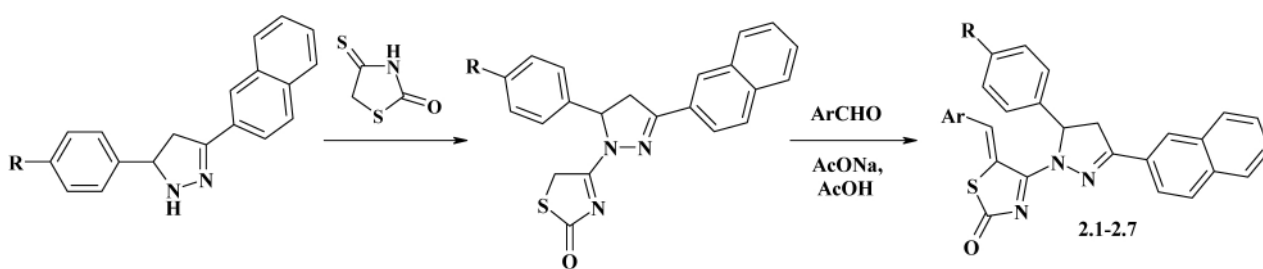


Схема 2



Таблиця 1

Протівірусна активність щодо грипу А Н1N1 штаму (California/07/2009)

Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
1.3	NR	28	> 100	> 3,6	1.24*	NR	21	46	2,2	3.2	NR	3,2	3,5	1,1
1.4	NR	32	> 100	> 3,1	1.27	V	32	> 100	> 3,1	3.4	V	14	> 100	> 7,1
1.6	V	18	> 100	> 5,6	1.27	NR	32	> 100	> 3,1	3.4	NR	40	> 100	> 2,5
1.6	NR	33	45	1,4	1.28	V	5	12	2,4	3.5	V	40	> 100	> 2,5
1.8	NR	36	> 100	> 2,8	1.28	NR	3,7	13	3,5	3.5	NR	68	> 100	> 1,5
1.10	V	48	> 200	> 4,2	1.29	V	2,6	> 50	> 19	4.4	V	32	56	1,8
1.10	NR	43	> 200	> 4,7	1.29	NR	5,4	> 50	> 9,3	4.6	V	32	> 100	> 3,1
1.10*	V	15	> 200	> 13	1.29*	NR	55	> 100	> 1,8	4.6	NR	37	> 100	> 2,7
1.10*	NR	19	> 200	> 11	1.30	NR	28	> 100	> 3,6	4.10	V	32	68	2,1
1.12	V	56	> 100	> 1,8	1.32	V	16	16	1	4.12	V	32	> 100	> 3,1
1.12	NR	71	> 100	> 1,4	1.32	NR	12	18	1,5	4.12	NR	32	> 100	> 3,1
1.13	V	0,14	2,4	17	1.33	V	12	> 50	> 4,2	4.14	NR	43	> 100	> 2,3
1.13	NR	0,15	1,5	10	1.33	NR	16	> 50	> 3,1	4.15	V	32	> 100	> 3,1
1.13*	V	16	> 100	> 6,3	1.37	NR	47	> 100	> 2,1	4.15	NR	44	> 100	> 2,3
1.13*	NR	14	42	3	2.1	V	32	> 100	> 3,1	4.16	V	2,9	> 50	> 17
1.20	V	3,7	> 100	> 27	2.1	NR	87	> 100	> 1,1	4.16	NR	10	> 50	> 5
1.20	NR	7,3	38	5,2	2.2	V	32	> 100	> 3,1	4.16*	V	5,7	7,2	1,3
1.20*	V	5,3	110	21	2.2	NR	41	> 100	> 2,4	4.16*	NR	7	38	5,4
1.20*	NR	6,4	17	2,7	2.4	V	32	> 100	> 3,1	4.17	V	1,8	> 50	> 28
1.22	V	32	> 100	> 3,1	2.4	NR	24	> 100	> 4,2	4.17	NR	4,9	> 50	> 10
1.23	V	56	> 100	> 1,8	2.5	V	34	> 100	> 2,9	4.17*	V	19	> 100	> 5,3
1.24	V	7,9	100	13	2.7	NR	56	> 100	> 1,8	4.17*	NR	22	> 100	> 4,5
1.24	NR	3,2	32	10	3.1	V	3,2	28	8,8					
1.24*	V	38	77	2	3.1	NR	7,1	39	5,5					

Примітка: * – результати повторного незалежного тестування.

Таблиця 2

Протівірусна активність щодо вірусу грипу А Н3N2 (штам Perth/16/2009)

Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
1.3	NR	29	> 100	> 3,4	2.4	NR	73	> 100	> 1,4	4.4	NR	21	44	2,1
1.6	NR	31	59	1,9	2.5	V	29	> 100	> 3,4	4.5	NR	55	> 100	> 1,8
1.7	V	3,8	24	6,3	2.5	NR	29	> 100	> 3,4	4.6	V	18	> 100	> 5,6
1.7	NR	46	> 100	> 2,2	2.7	V	58	> 100	> 1,7	4.6	NR	16	> 100	> 6,3
1.10	NR	30	> 100	> 3,3	2.7	NR	32	> 100	> 3,1	4.7	NR	40	> 100	> 2,5
1.20	NR	3,2	3,5	1,1	3.1	V	3,2	28	8,8	4.8	NR	46	> 100	> 2,2
1.22	V	24	26	1,1	3.1	NR	3,2	12	3,8	4.9	V	27	> 100	> 3,7
1.22	NR	27	> 100	> 3,7	3.2	V	3,2	3,2	1	4.9	NR	6	> 100	> 17
1.24	V	100	> 100	> 1	3.2	NR	2,9	3	1	4.9*	V	6,8	> 100	> 15
1.24	NR	32	49	1,5	3.3	V	32	32	1	4.9*	NR	6,8	> 100	> 15
1.25	NR	45	> 100	> 2,2	3.3	NR	19	> 100	> 5,3	4.10	NR	35	> 100	> 2,9
1.27	V	32	> 100	> 3,1	3.4	V	19	> 100	> 5,3	4.12	V	18	100	5,6
1.27	NR	32	> 100	> 3	3.4	NR	19	81	4,3	4.12	NR	17	100	5,9
1.29	NR	30	> 100	> 3,3	3.5	V	32	32	1	4.13	NR	28	64	2,3
1.32	V	32	> 100	> 3,1	3.5	NR	19	> 100	> 5,3	4.14	NR	35	> 100	> 2,9
1.32	NR	49	> 100	> 2	3.5*	V	11	> 100	> 9,1	4.15	V	67	> 100	> 1,5
1.30	NR	30	> 100	> 3,3	3.5*	NR	28	> 100	> 3,6	4.15	NR	63	> 100	> 1,6
2.1	V	56	> 100	> 1,8	3.9	V	3,2	3,2	1	4.16	V	32	> 100	> 3,1
2.1	NR	56	> 100	> 1,8	3.9	NR	3,2	3,4	1,1	4.17	V	32	32	1
2.3	V	50	> 100	> 2	4.2	V	12	32	2,7	4.17	NR	5,3	> 100	> 19
2.3	NR	50	> 100	> 2	4.2	NR	5,3	> 100	> 19	4.17*	NR	15	> 100	> 6,7
2.4	V	32	32	1	4.4	V	10	32	3,2					

Примітка: * – результати повторного незалежного тестування.

У результаті скринінгу встановлено групову активність похідних до вірусу грипу А Н1N1, адже для 35 речовин індекс селективності (SI) знаходився в діапазоні 1÷>28. Для 2-піразолінзаміщених-4-тіазолідинонів (сполуки **1.1–1.38**) оправдано є заміна фенільного радикалу в положенні 3 піразолінового циклу на нафтильний, що дозволило значно підвищити противірусний ефект гетероциклів [11]. Так, сполука **1.20** проявила високу ефективність і низьку цитотоксичність (SI>27) щодо штаму California/07/2009 (табл. 1), водночас, похідні

1.10 (SI=>11÷>13) та **1.13** (SI=10÷>17) виявились значно активнішими порівняно зі структурно близькими **1.3–1.9**. Загалом для амідів 2-піразолін-4-тіазолідинон-5-оцтових кислот **1.3–1.14** характерний вищий противірусний ефект порівняно з відповідними кислотами **1.1–1.2** та 5-(2-оксо-2-арилетил)-похідними (**1.15–1.19**). Введення арил(гетерил)іденового фрагменту в положення 5 тіазолідинового циклу (**1.21–1.23**) не призвело до бажаного потенціювання дії, однак серед 2-піразолінзаміщених-4-тіазолідинонів з ізатининовим фрагментом (**1.24–1.38**)

Таблиця 3

Противірусна активність щодо грипу А Н5N1 (штам Vietnam/1203/2004H)

Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
1.1	V	32	> 100	> 3,1	1.29*	NR	9,5	> 100	> 11	4.2	V	3,2	32	10
1.1	NR	32	> 100	> 3,1	1.30	V	32	> 100	> 3,1	4.2	NR	3,2	> 100	> 31
1.3	V	17	> 100	> 5,9	1.30	NR	32	> 100	> 3,1	4.2*	V	43	> 100	> 2,3
1.3	NR	35	> 100	> 2,9	1.32	V	32	32	1	4.2*	NR	46	> 100	> 2,2
1.4	V	32	34	1,1	1.33	V	32	> 100	> 3,1	4.5	NR	30	> 100	> 3,3
1.4	NR	57	> 100	> 1,8	1.33	NR	32	> 100	> 3,1	4.6	V	32	32	1
1.6	NR	21	29	2,6	1.34	V	32	> 100	> 3,1	4.6	NR	2,8	> 100	> 36
1.7	V	2,7	16	5,9	1.34	NR	32	> 100	> 3,1	4.6*	V	7,2	75	10
1.7	NR	8,3	>100	> 12	1.36	V	32	> 100	> 3,1	4.6*	NR	22	> 100	> 4,5
1.7 S	V	4,7	44	9,4	1.36	NR	32	> 100	> 3,1	4.7	NR	38	> 100	> 2,6
1.7 S	NR	5,7	66	12	1.38	NR	53	>100	> 1,9	4.8	V	32	32	1
1.8	V	24	32	1,3	2.1	NR	40	> 100	> 2,5	4.8	NR	32	83	2,6
1.8	NR	62	> 100	> 1,6	2.2	NR	60	> 100	> 1,7	4.9	V	32	32	1
1.10	NR	38	> 100	> 2,6	2.4	V	10	32	3,2	4.9	NR	3,7	> 100	>27
1.11	V	32	> 100	> 3,1	2.4	NR	39	>100	> 2,6	4.9*	V	23	> 100	> 4,3
1.12	V	32	> 101	> 3,1	2.5	V	3,2	3,8	1,2	4.9*	NR	25	> 100	> 4
1.13	V	3,2	3,2	1	2.5	NR	33	> 100	> 3	4.10	V	1,9	5,7	3
1.13	NR	3,2	5	1,6	2.6	V	3,2	8,7	2,7	4.10	NR	5	77	15
1.14	V	3,2	32	10	2.7	V	36	> 100	> 2,8	4.10*	V	17	100	5,90
1.14	NR	28	>100	> 3,6	2.7	NR	32	> 100	> 3,1	4.10*	NR	18	>100	> 5,6
1.14 *	V	23	>100	> 4,3	3.1	V	3,2	15	4,7	4.11	NR	32	> 100	> 3,1
1.14 *	NR	39	>100	> 2,6	3.1	NR	4	12	3	4.12	V	3,2	32	10
1.20	V	16	28	1,8	3.2	V	3,2	3,2	1	4.12	NR	3,2	> 100	> 31
1.20	NR	3,9	6,2	1,6	3.2	NR	3	3,9	1,3	4.12*	V	21	80	3,8
1.22	V	68	> 100	> 1,5	3.3	V	32	> 100	> 3,1	4.12*	NR	22	> 100	> 4,5
1.22	NR	36	> 100	> 2,8	3.3	NR	32	> 100	> 3,1	4.13	V	9,8	9,8	1
1.24	V	3,2	3,2	1	3.4	V	32	32	1	4.13	NR	2,8	48	17
1.24	NR	7,7	42	5,5	3.4	NR	27	> 100	> 3,7	4.13*	V	63	>100	> 1,6
1.25	V	3,20	3,20	1	3.5	V	32	32	1	4.13*	NR	46	>100	> 2,2
1.26	V	32	> 100	> 3,1	3.5	NR	12	> 100	> 8,3	4.14	NR	31	> 100	> 3,2
1.27	NR	16	> 100	> 6,3	3.6	NR	3,3	4,4	1,3	4.15	V	32	32	1
1.28	NR	30	>100	> 3,3	3.7	V	3,2	3,2	1	4.15	NR	31	> 100	> 3,2
1.29	V	3,6	> 100	> 28	3.7	V	3,2	3,2	1	4.16	V	0,32	1	3,1
1.29	NR	11	> 100	> 9,1	3.7	NR	2,3	2,3	1	4.16	NR	13	> 100	> 7,7
1.29*	V	24	> 100	4,2	3.9	V	1,2	3,2	2,7	4.17	V	11	> 100	> 9,1
1.29*	NR	19	> 100	> 5,3	3.9	NR	3,2	3,4	1,1	4.17	NR	37	> 100	> 2,7

Примітка: * – результати повторного незалежного тестування.

слід відзначити сполуки **1.24** ($SI=10 \div 13$) та **1.29** ($SI=>9,3 \div 19$), що проявили ефективне інгібування в концентрації $\leq 5,4$ мкг/мл. Порівнюючи протівірусну активність 5-ариліден-4-піразолін-2-тіазолідинових **2.1–2.7** і ізомерних аналогів **1.21–1.23**, встановлено, що 2- чи 4-розташування піразолінового циклу не має суттєвого впливу на прояв активності, індекси селективності для зазначених сполук є співвідносними ($SI \approx 3$).

Серед 5-[5-арил-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-тіазолідин-2,4-діонів **3.1–3.9** найвищу активність проявили сполуки **3.1** і **3.2** з показниками $EC_{50}=3,2 \div 7,1$ мкг/мл (табл. 1). Встановлено, що введення замісника в 3N положення тiazолідинового циклу зумовило зменшення (**3.4, 3.5**) чи втрату (**3.3, 3.6–3.7**) активності. Заслужують на увагу результати вивчення протівірусної активності піразолін-тіазолідонових кон'югатів, з'єднаних арилметиліденовою лінкерною групою (**4.16**, $SI=17$; **4.17**, $SI=28$). Водночас, піразолінзаміщені ізатини **4.1–4.4** та створені на їх основі 4-тіазолідиони **4.5–4.15** характеризуються незначною протівірусною активністю до штаму California/07/2009 ($SI \approx 3$).

Аналіз результатів (табл. 2) протівірусної активності щодо вірусу грипу АН3N2 (штам Perth/16/2009) свідчить про меншу ефективність похідних тiazолідинону з піразоліновим фрагментом в порівнянні з California/07/2009 (АН1N1). Серед тестованих сполук можна виділити **1.7**,

3.1 та **3.2**, значення EC_{50} яких не перевищувало 10 мкг/мл при співвідносних показниках цитотоксичності, що зумовило низькі значення SI (табл. 2). Варті уваги результати піразолінзаміщеного ізатину **4.2** і 5-піразолінзаміщених тiazолідинових **4.9** і **4.17**, для яких індекс селективності перевищував 15, що зумовлено їх низькою цитотоксичністю. У контексті кореляції «структура-дія» можна відзначити, що конденсація *N*-заміщеного ізатину **4.2** з 2,4-тіазолідиндіоном (сполука **4.7**) та роданіном (**4.8**) призвела до зменшення ефекту. Водночас поєднання піразолінового, 2-оксоіндольного та псевдотіогідантоїнового фрагментів супроводжувалось збереженням активності (**4.9** $SI=>3,7 \div 17$) чи потенціюванням дії, як у випадку сполуки **4.12** ($SI=5,6 \div 5,9$) порівняно з вихідною сполукою **4.3**, що виявилась неактивною ($SI=<1$).

Найвиразнішу групову активність (табл. 3) 4-тіазолідиони з піразоліновим фрагментом проявили щодо вірусу грипу типу А Н5N1 (штам Vietnam/1203/2004Н). Серед 2-піразолінзаміщених 4-тіазолідинових найвищу активність проявили сполуки **1.3** ($SI=>2,9 \div 5,9$), **1.7** ($SI=5,9 \div 12$), **1.14** ($SI=10$) і, особливо, **1.29** ($SI=4,2 \div 28$). Крім того, варті уваги похідні **1.13**, **1.20**, **1.24** та **1.25**, для яких значення EC_{50} не перевищувало 4 мкг/мл. Для 5-[5-арил-3-нафталене-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-тіазолідин-2,4-діонів **3.1–3.9** також характерна групова ефективність до вірусів штаму

Таблиця 4

Протівірусна активність щодо грипу В (штам Florida/4/2006)

Сполука	Метод	EC_{50}	CC_{50}	SI	Сполука	Метод	EC_{50}	CC_{50}	SI	Сполука	Метод	EC_{50}	CC_{50}	SI
1.1	V	32	> 100	> 3.1	1.30	NR	28	> 100	> 3.6	3.7	V	3,2	3,2	1
1.1	NR	37	64	1,7	1.32	V	32	32	1	3.7	NR	2,6	4,6	1,8
1.7	V	32	32	1	1.32	NR	28	49	1,8	3.9	V	3,2	3,2	1
1.8	V	32	> 100	> 3.1	1.33	V	32	32	1	3.9	NR	2,8	3,9	1,4
1.8	NR	38	> 100	> 2.6	1.33	NR	44	> 100	> 2.3	4.2	NR	29	47	1,6
1.10	V	30	100	3,3	1.34	V	32	32	1	4.6	V	32	32	1
1.10	NR	14	74	5,3	1.34	NR	55	> 100	> 1.8	4.6	NR	31	> 100	> 3.2
1.12	V	36	> 100	> 2.8	1.36	V	32	> 100	> 3.1	4.9	V	50	> 100	> 2
1.14	V	46	> 100	> 2.2	1.36	NR	30	> 100	> 3.3	4.9	NR	32	> 100	> 3.1
1.19	V	32	> 100	> 3.1	1.38	NR	43	> 100	> 2.3	4.10	V	10	> 100	> 10
1.19	NR	40	> 100	> 2.5	2.1	V	17	> 100	> 5.9	4.10	NR	2,7	23	8,5
1.20	V	3,2	3,2	1	2.2	V	36	> 100	> 2.8	4.12	V	12	> 100	> 8.3
1.20	NR	3,2	3,2	1	2.2	NR	90	> 100	> 1.1	4.12	NR	6,1	> 100	> 16
1.23	V	32	> 100	> 3.1	2.5	V	32	> 100	> 3.1	4.13	V	3,2	32	10
1.23	NR	84	> 100	> 1.2	2.5	NR	39	> 100	> 2.6	4.13	NR	3,1	12	3,9
1.24	V	3,2	> 100	> 31	3.1	V	5	13	2,6	4.13*	V	19	> 100	> 5.3
1.24	NR	3,5	40	11	3.1	NR	3,2	8,8	2,8	4.13*	NR	23	62	2,7
1.25	V	3,2	4,2	1,3	3.2	V	3,2	3,2	1	4.13*	V	23	62	2,7
1.26	V	3,2	> 100	> 31	3.2	NR	> 2.5	2,5	1	4.14	V	3,2	24	7,5
1.26	NR	7,5	34	4,5	3.3	V	24	32	1,3	4.14	NR	3,2	88	28
1.27	NR	75	> 100	> 1.3	3.3	NR	17	> 100	> 5.9	4.16	V	32	32	1
1.28	V	32	32	1	3.4	V	12	> 100	> 8.3	4.16	NR	31	> 100	> 3.2
1.28	NR	31	> 100	> 3.2	3.4*	V	18	> 100	> 5.6	4.17	NR	30	> 100	> 3.3
1.29	V	32	> 100	> 3.1	3.4*	NR	60	> 100	> 1.7					
1.29	NR	33	> 100	> 3	3.5	NR	34	> 100	> 2.9					

Примітка: * – результати повторного незалежного тестування.

Vietnam/1203/2004H (SI=1÷>8,3, крім **3.8**). Цікаво, що введення замісника в 3N положення тiazолідинового циклу сполук **3.1** і **3.2** мало неоднозначний вплив. Так, активність амідів 5-піразолін-2,4-тіазоліндіон-3-оцтової кислоти **3.3–3.5** виявилась на порядок меншою ($EC_{50}=12\div 32$ мкг/мл), ніж вихідних речовин **3.1** та **3.2** ($EC_{50}=3\div 4$ мкг/мл), тоді як введення метилєнпіперазинового фрагменту (**3.6–3.9**) не вплинуло на ефект.

Серед N-піразолінзаміщених ізатинів високу активність виявила сполука **4.2** на фоні решти неактивних представників цієї групи (**4.1, 4.3, 4.4**), що може свідчити про критичний вплив будови замісників у 3 і 5 положенні піразолінового циклу (табл. 3). Так, заміна атома хлору на метоксигрупу в фенільному радикалі в положенні 5 чи введення метоксигрупи у фенільний радикал у положенні 3 піразолінового циклу призводить до втрати противірусної активності. Серед 4-тіазолідион-(2-оксоіндол)-піразолінових кон'югатів **4.5–4.15** найвищу активність проявили 2-аміно-4-тіазолідиони з максимальними значеннями SI > 25 (**4.6** – SI > 37, **4.9** – SI = 27, **4.12** SI > 31). Отримані результати дозволяють трактувати зазначені сполуки як «сполуки-хіти» з виразним впливом на вірус грипу А H5N1. Слід також зазначити, що для сполуки **4.16** в одному із дослідів встановлено EC_{50} 0,32 мкг/мл.

Результати противірусної активності сполук на штамі Florida/4/2006 вірусу грипу В (табл. 4) свідчать, що серед 2-піразолінзаміщених 4-тіазоліди-нонів виділяється сполука **1.20** ($EC_{50} = 3,2$ мкг/мл). Порівняно з активністю **1.20** її 5-заміщені похідні **1.10, 1.12** та **1.19** є менш ефективними ($EC_{50} = 14\div 36$ мкг/мл), однак характеризуються значно нижчою цитотоксичністю, що позитивно вплинуло на їх індекси селективності (SI=>2,2÷5,3). Аналогічний вплив на прояв активності зумовлює введення 2-оксоіндолного фрагменту в положення 5 (**1.24–1.38, 1.31** та **1.37**). Найвищу активність серед наведених похідних проявили **1.24** і **1.26** з максимальними показниками індексів селективності > 31 (табл. 4). У ряду 5-[5-арил-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідро-піразол-1-іл]тіазолідин-2,4-діонів **3.1–3.9** достатньо ефективними виявились сполуки **3.1, 3.2, 3.7** і **3.9** ($EC_{50} < 5$ мкг/мл), проте їх дія зумовлена суттєвою цитотоксичністю. Хоча амід 5-піразолін-2,4-тіазоліндіон-3-оцтової кислоти **3.3–3.5** були менш ефективними ($EC_{50}=12\div 34$ мкг/мл), проте характеризуються значно вищими показниками індексів селективності. Серед N-піразолін-заміщених ізатинів (**4.1–4.4**) жодна сполука не характеризується значною активністю до вірусу грипу В. Водночас, поєднання зазначеної системи з 2,4-тіазолідин-діоновим (**4.10, 4.13**), 2-тіоксо-4-тіазолідиновим (**4.14**) і 2-аміно-4-тіазоліди-ноновим (**4.12**) фрагментами сприяло появі значної противірусної активності (SI=2,7÷28).

Аналіз противірусної активності тестованих сполук щодо коронавірусу SARS, вірусу Такарібе та вірусів групи біологічної зброї свідчить про помірну чи незначну ефективність 4-тіазолідинонів з піразоліновим фрагментом у молекулах (табл. 5).

Слід зазначити також ефект 4-ацетоксифеніламідів 2-(5-арил-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл)-4-оксотіазолідин-5-оцтової кислоти **1.4** і **1.6** на штам Urbani коронавірусу SARS у концентраціях < 5мкг/мл та SI=10÷>31, а також сполуку **2.1**, що в одному з дослідів мала індекс селективності >42. Крім того, ідентифіковано ряд сполук (**1.9, 1.11, 1.14** і **4.3**) з порівняно високим впливом на респіраторний синцитіальний вірус (табл. 5). Особливо перспективними є результати сполуки **1.11** (SI=24).

З метою встановлення можливих механізмів реалізації біологічної активності досліджуваних речовин використано *in silico* метод – молекулярний докінг [20, 1], що полягає в оцінюванні рівня зв'язування молекули з потенційною біомішенню. Враховуючи високу групову активність досліджуваних сполук на штамів вірусів грипу А і В, для докінгових досліджень обрано нейрамідіази та трансмембранний фрагмент вірусного протеїну M2. Ще однією потенційною біомішенню може бути гемаглютинін, проте нині немає доступної моделі білка гемаглютиніну з його інгібітором, що унеможливає проведення порівняльного аналізу зв'язування з білком при докінгових дослідженнях. Для дослідження з Protein Data Bank відібрано кристалографічні моделі з

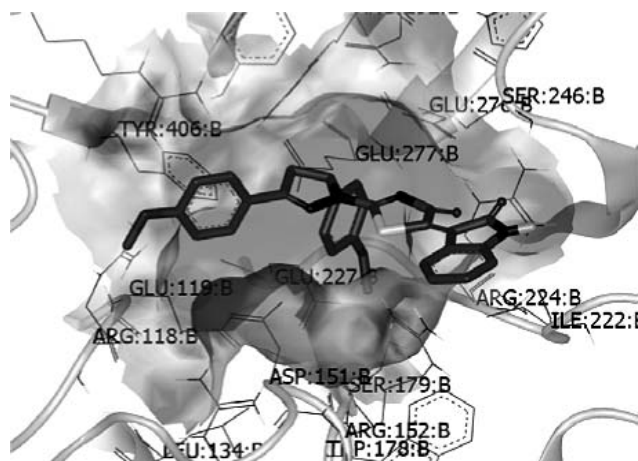


Рис. 3а. Сполука **1.29** в області зв'язування нейрамідіази N1 (кристалографічна модель 2HU0).

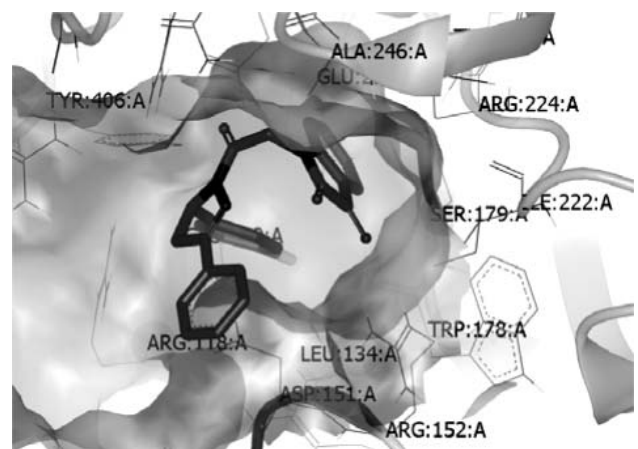


Рис. 3б. Сполука **4.2** в області зв'язування нейрамідіази N2 (кристалографічна модель 1INH).

найбільшою роздільною здатністю [22]: 3С9J (комплекс трансмембранного фрагменту вірусного протеїну М2 з Амантадином), 1ІNH (комплекс нейрамідідази N2 з інгібітором BANA111), 2НU0 (комплекс нейрамідідази N1 з Озелтамівіром) і 1VСJ (комплекс нейрамідідази

грипу типу В з 1-(4-карбокси-2-(3-пентиламіно)феніл)-5-амінометил-5-гідроксиметилпіролідін-2-оном).

На основі функції *Consensus* сформовано рейтинг сполук (топ-10) і проаналізовано дані щодо вибору потенційних агоністів/антагоністів (табл. б).

Таблиця 5

Протівірусна активність вірусів біологічної зброї та SARS

Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI	Сполука	Метод	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
SARS Coronavirus штаму Urbani														
1.3	NR	25	78	3,1	1.16	V	16	24	1,5	2.3	NR	22	>100	> 4.5
1.4	V	18	28	1,6	1.16	NR	18	30	1,7	2.4	NR	32	>100	> 3.1
1.4	NR	3,2	> 100	> 31	1.18	V	32	> 100	> 3.1	2.7	NR	35	> 100	> 2.9
1.6	V	3,9	100	26	1.18	NR	31	> 100	> 3.2	3.1	NR	24	38	1,6
1.6	NR	5	50	10	1.20	V	3,2	15	4,7	3.2	V	> 5.2	32	6,2
1.7	V	28	32	1,1	1.20	NR	3,2	3,9	1,2	3.3	NR	33	>100	> 3
1.7	NR	22	28	1,3	1.23	NR	31	> 100	> 3.2	3.6	V	3,6	32	8,9
1.9	V	32	> 100	> 3.1	1.29	NR	22	68	3,1	3.8	NR	17	26	1,5
1.9	NR	26	> 100	> 3.8	1.34	NR	8,2	14	1,7	4.1	NR	57	> 100	> 1.8
1.10	NR	35	> 100	> 2.9	2.1	V	4,9	28	5,7	4.7	NR	57	> 100	> 1.8
1.13	V	3,2	15	4,7	2.1	NR	2,4	> 100	> 42	4.12	NR	> 40	> 100	2,5
1.14	NR	34	>100	> 2.9	2.1*	NR	29	> 100	> 3.4					
Tasaripe Virus штаму TRVL 11573														
1.3	V	6,2	26	4,2	1.29	V	9,5	12	1,3	4.2	V	31	37	1,2
1.3	NR	12	55	4,6	1.30	V	14	68	4,9	4.2	NR	27	55	2
1.13	V	2,7	4,2	1,6	1.30	NR	10	53	5,3	4.3	V	7,8	32	4,1
1.13	NR	1,6	2,5	1,6	1.34	V	8,2	40	4,9	4.3	NR	8,8	41	4,7
1.20	V	2,7	3,6	1,3	1.34	NR	15	73	4,9	4.7	V	9,7	28	2,9
1.24	V	41	> 100	> 2.5	3.2	NR	2,4	5,4	2,3	4.7	NR	14	45	3,2
1.24	NR	23	92	3,9	3.8	NR	2,9	7	2,4					
Dengue Virus Type 2 штаму New Guinea C														
1.3	V	56	100	1,8	1.23	NR	20	> 100	> 5	4.3	V	32	42	1,3
1.8	NR	22	> 100	> 4.5	1.28	V	3,1	4,6	1,5	4.3	NR	32	44	1,4
1.20	NR	3,2	4	1,3	2.4	NR	32	>100	> 3.1					
1.23	V	22	> 100	> 4.5	3.9	NR	32	34	1,1					
Rift Valley Fever Virus штаму MP-12														
1.4	V	9,90	46	4,6	1.20	V	3,2	13	4,1	3.8	V	32	32	1
1.6	V	7,3	24	3,3	1.20	NR	3	12	4	4.4	NR	33	77	2,3
1.6	NR	7,8	16	2,1	2.1	NR	22	> 100	> 4.5	4.10	V	32	36	1,1
1.7	V	32	32	1	2.4	V	32	36	1,1	4.12	NR	29	> 100	> 3.4
1.7	NR	37	42	1,1	2.4	NR	31	>100	> 3.2	4.16	V	32	32	1
1.13	V	3,9	13	3,3	3.2	V	9,6	13	1,4	4.16	NR	30	40	1,3
1.13	NR	2,8	4,9	1,8	3.2	NR	3	4,1	1,4					
Respiratory Syncytial Virus штаму A2														
1.6	V	19	32	1,7	1.11 s	V	7,8	44	5,6	3.2	V	5	14	2,8
1.6	V	11	15	1,4	1.11 s	NR	2,5	60	24	3.8	V	32	49	1,5
1.7	V	22	24	1,1	1.12	V	4,2	16	3,8	3.9	V	18	28	1,6
1.7	V	4,5	5,4	1,2	1.13	V	2,9	3,3	1,1	4.3	V	3,5	64	18
1.9	NR	6,3	> 100	> 16	1.14	NR	3,7	> 100	> 27	4.4	V	9,5	18	1,9
1.11	V	10	24	2,4	2.4	V	23	28	1,2	4.10	V	2,9	27	9,3
1.11	NR	1,8	44	24	2.4	NR	14	26	1,9	4.16	V	32	> 100	> 3.1
Venezuelan Equine Encephalitis Virus, штаму TC-83														
1.13	V	26	28	1,1	1.35	NR	2,5	3,5	1,4	3.9	NR	32	46	1,4
1.13	NR	7,4	21	2,8	3.1	NR	32	42	1,3	4.1	NR	75	> 100	> 1.3
1.23	V	1,1	3,2	2,9	3.2	V	9,2	12	1,3	4.7	NR	8,7	19	2,2
1.35	V	0,76	2,8	3,7	3.8	V	32	42	1,3	4.15	NR	73	> 100	> 1.4
Vaccinia, штаму Copenhagen														
1.4	CV	58.9	>300	>5.1	1.15	CV	63,1	>300	>4.8	1.16	CV	89	>300	>3.4
1.10	CV	132	>300	>2.3										

Примітка: * – результати повторного незалежного тестування.

Таблиця 6

Результати докінгових досліджень

№	Нейрамінідаза N1 (код 2HU0)		Нейрамінідаза N2 (код 1INH)		Нейрамінідаза грипу типу Б (код 1VCJ)		Трансмембранний фрагмент вірусного протеїну M2 (код 3C9J)	
	Ліганд	Consensus Score	Ліганд	Consensus Score	Ліганд	Consensus Score	Ліганд	Consensus Score
1	Озелтамівір_1*	510	BANA_111	434	КПФАГП***	283	1.22_1*	1426
2	Озелтамівір_2*	666	4.2	515	Les-1911**	429	1.22_2*	1435
3	1.29	674	Les-850**	528	1.24	623	3.3_1*	1554
4	Les-452**	686	Ланінамівір_1*	535	Ланінамівір_1*	3.3	3.3_2*	1563
5	1.24	708	4.9	608	Les-1803**	657	3.3_3*	1572
6	Les-1563**	754	3.5	613	4.12	810	1.23_1*	1574
7	Les-1895**	789	Ланінамівір_2*	712	Ланінамівір_2*	878	3.3_4*	1581
8	4.17	798	3.1	721	Les-147**	887	1.23_2*	1583
9	1.7	841	Les-1520**	811	Les-2315**	895	3.3_5*	1590
10	Ланінамівір	841	Les-1005**	820	4.14	896	3.3_6*	1599

Примітки: * – номер конформера; ** – інші похідні 4-тіазолідинону, синтезовані нашою групою; *** – КПФАГП - 1-(4-карбоксі-2-(3-пентиламіно)феніл)-5-амінометил-5-гідроксиметилпіролідин-2-он).

Згідно до результатів докінгу сполуки **1.29**, **1.24** і **4.17**, що проявили високу активність проти штамів вірусу грипу А H5N1 (Vietnam /1203/2004H) та вірусу грипу А H1N1 (California/07/2009), є потенційно афінними за значеннями скорингової функції *Consensus* (табл. 6) до нейрамінідази N1, на рівні препаратів порівняння Озелтамівіру та Ланінамівіру (рис. 3а).

Отримані результати скорингових функцій **4.2** та **4.9**, при дослідженні афінності речовин до активного сайту нейрамінідази N2, свідчать про їх можливий високий рівень зв'язування з білком. При візуалізації результатів докінгу **4.2** спостерігається утворення водневих зв'язків між атомом Оксигену в 3 положенні ізаїнового фрагменту та залишками аргініну ARG:152 і LEU:134:A (рис. 3б).

Також здійснено оцінку можливості зв'язування досліджуваних сполук з нейрамінідазою грипу типу В. За показниками *Consensus* (табл. 6) встановлено імовірність високого афінитету **1.24**, що підтверджується низькими значеннями ефективної концентрації та високою селективністю речовини щодо вірусу. При візуалізації результатів докінгу **1.24** спостерігається утворення водневих зв'язків між оксо-групою в 4 положенні тіазолідинового циклу та залишками TYR:409:A та ARG:292:A (рис. 4а).

Ще однією біомішенню, через яку реалізують свою активність такі препарати, як амантадин і ремантадин, є трансмембранний фрагмент вірусного протеїну M2. Цей білок наявний лише у вірусах грипу А. У результаті докінгу до M2 встановлено високу афінність ряду досліджуваних речовин (табл. 6). Проте за значеннями *Consensus* стандартний інгібітор Адамантан виявив низький ступінь зв'язування з протеїном, тому результати цього дослідження можна вважати не валідними. На нашу думку, причиною цього є малі розміри молекули Адамантану та мінімальні взаємодії з біомішенню, результатом чого є незадовільні значення скорингових функцій. Ілюстрація зв'язування сполуки **1.22** наведена на рис. 4б.

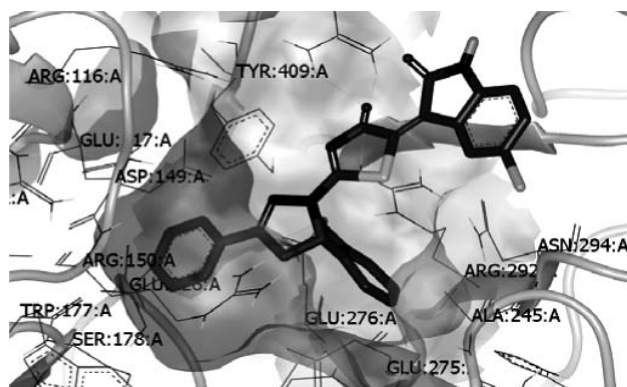


Рис. 4а. Сполука **1.24** в області зв'язування нейрамінідази грипу типу Б (кристалографічна модель 1VCJ).

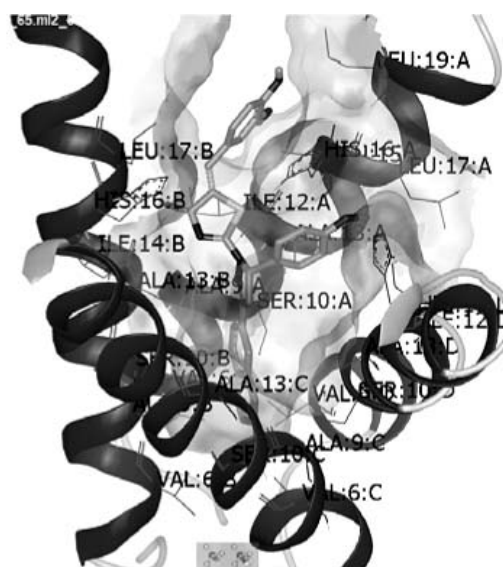


Рис. 4б. Сполука **1.22** в області зв'язування трансмембранного фрагменту вірусного протеїну M2 (кристалографічна модель 3C9J).

Висновки

На основі реакцій [2+3]-циклоконденсації, амінолізу та конденсації Кньюенагеля здійснено синтез нових 2(4)-піразолініл-4(2)-тіазолідинових для скринінгу протівірусної активності *in vitro*, що обґрунтовано результатами попередніх досліджень структурно споріднених похідних 4-тіазолідину.

Спрямована хімічна модифікація сполук сприяла значному потенціюванню їх дії та розширенню векторів

протівірусної активності порівняно з раніше описаними похідними 4-тіазолідину.

Ідентифіковано високоактивні сполуки щодо вірусів грипу А та В, коронавірусу SARS та респіраторного синцитіального вірусу, а також окреслено ряд закономірностей взаємозв'язку «структура–дія».

На основі молекулярного докінгу запропоновано ймовірний механізм реалізації протигрипозної активності сполук-хітів.

Список літератури

- Design, synthesis, and evaluation of 2-aryl-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agents / R. K. Rawal, R. Tripathi, S. B. Katti [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 15. – P. 1725–1731.
- Synthesis and anti-HIV studies of 2-adamantyl-substituted thiazolidin-4-ones / J. Balzarini, B. Orzeszko, J.K. Maurin [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 42. – P. 993–1003.
- Discovery of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as potent anti-HIV-1 agents / M.L. Barreca, A. Chimirri, L. De Luca [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2001. – Vol. 11. – P. 1793–1796.
- Design and synthesis of 2-(2,6-dibromophenyl)-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agents / R.K. Rawal, R. Tripathi, S.B. Katti [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 43. – P. 2800–2806.
- Synthesis and evaluation of 2-(2,6-dihalophenyl)-3-pyrimidinyl-1,3-thiazolidin-4-one analogues as anti-HIV-1 agents / R. K. Rawal, R. Tripathi, S. B. Katti [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 15. – P. 3134–3142.
- Predicting anti-HIV activity of 1,3,4-thiazolidinone derivatives: 3D-QSAR approach / V. Ravichandran, B. R. Prashantha Kumar, S. Sankar [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44. – P. 1180–1187.
- Design, microwave-assisted synthesis and HIV-RT inhibitory activity of 2-(2,6-dihalophenyl)-3-(4,6-dimethyl-5-(un)substituted-pyrimidin-2-yl)thiazolidin-4-ones / H. Chen, J. Bai, L. Jiao [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 17. – P. 3980–3986.
- Non-nucleoside inhibitors of the hepatitis C virus NS5B RNA-dependant RNA polymerase: 2-Aryl-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-one derivatives / R. K. Rawal, S. B. Katti, N. Kaushik-Basu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2008. – Vol. 18. – P. 6110–6114.
- Husain M.I. Synthesis and biological activity of 4-(3-aryl-4-oxo-2-thioxothiazolidin-5-ylimino)-3-methyl-1-(N,N-disubstituted aminomethyl)pyrazolin-5-ones / M.I. Husain, S. Shukla // *Indian J Chem.* – 1986. – Vol. 25B. – P. 983–985.
- Synthesis and antiviral activity of new pyrazole and thiazole derivatives / O.I. El-Sabbagh, M.M. Baraka, S.M. Ibrahim [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44. – P. 3746–3753
- Синтез та вивчення протівірусної активності тiazолонів з піразоліновим фрагментом в молекулах / Д.Я. Гаврилюк, Б.С. Зіменковський, О.М. Василенко [та ін.] // *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* – 2009. – Т. 7, №1 (25). – С. 57–61.
- Синтез 3-(3,5-діарилпіразол-1-іл)-1,3-дигідроіндол-2-онів та вивчення їх протипухлинної дії / Д. Я.Гаврилюк, Б. С. Зіменковський, І.О. Степаненко [та ін.] // *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація* – 2010. – №3–4. – С. 31–38.
- Synthesis of new 4-azolidinones with 3,5-diaryl-4,5-dihydropyrazole moiety and evaluation of their antitumor activity *in vitro* / D. Havrylyuk, N. Kovach, B. Zimenkovsky [et al.] // *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska.* – 2010. – Vol. XXIII, №3. – P. 173–177.
- Synthesis and anticancer activity of isatin-based pyrazolines and thiazolidines conjugates / D. Havrylyuk, N. Kovach, B. Zimenkovsky [et al.] // *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* – 2011. – Vol. 344. – P. 514–522.
- <http://www.niaid.nih.gov>
- Schulz-Gasch T. Binding site characteristics in structure-based virtual screening: evaluation of current docking tools / T. Schulz-Gasch, M.Stahl // *J. Mol. Model.* – 2003. – Vol. 9. – P. 47–57.
- Schulz-Gasch T. Scoring functions for protein–ligand interactions: a critical perspective / T. Schulz-Gasch, M. Stahl // *Drug Discov. Today Tech.* – 2004. – Vol. 1, №3. – P. 231–239.
- <http://www.eyesopen.com>
- Синтез та вивчення протиракового потенціалу 5-арил-6,6α-дигідро-2Н-піразоло[1,5-с]бензо[е]-1,3-оксазино-2-спіро-4'-тіазолідин-2'-онів та їх ариліденпохідних / Д.Я.Гаврилюк, Р.Б. Лесик, В.С. Магійчук [та ін.] // *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* – 2006. – Т. 4, вип. 1 (13). – С. 42–47.
- Comparison of automated docking programs as virtual screening tools / M.D. Cummings, R.L. DesJarlais, A.C. Gibbs [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 48, №4. – P. 962–976.
- New approach to molecular docking and its application to virtual screening of chemical databases / C.A. Baxter, C.W. Murray, B. Waszkowycz [et al.] // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* – 2000. – Vol. 40. – P. 254–262.
- <http://www.rcsb.org>

Відомості про авторів:

Гаврилюк Д.Я., к. фарм. н., асистент каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Хирков С.В., аспірант каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Атаманюк В.В., студент 5-го курсу фармацевтичного факультету ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Зіменковський Б.С., д. фарм. н., зав. каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, ректор ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Лесик Р.Б., д. фарм. н., професор каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, декан ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Надійшла в редакцію 23.04.2012 р.



В.І. Гусаров, С.М. Коваленко, О.В. Заремба, Т.Д. Гусарова

Препаративна очистка синтетичних кумаринів, що містять залишок холевої кислоти

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: жовчні кислоти, кумарини, 1,3,4-оксадіазолі, ВЕРХ, препаративна хроматографія.

Ключевые слова: желчные кислоты, кумарины, 1,3,4-оксадиазолы, ВЭЖХ, препаративная хроматография.

Key words: bile acid, coumarins, 1,3,4-oxadiazoles, HPLC, preparative chromatography.

Розроблено методику препаративної очистки синтезованих 3-(2-холіл-1,3,4-оксадіазоліл)-кумаринів методом ВЕРХ з метою подальшого вивчення їх флуоресцентних властивостей. Структуру сполук підтверджено даними ¹H-ЯМР-спектроскопії, чистоту – хроматографічними методами.

Разработана методика препаративной очистки синтезированных 3-(2-холил-1,3,4-оксадиазоллил)-кумаринов методом ВЭЖХ с целью дальнейшего изучения их флуоресцентных свойств. Структура соединений подтверждена данными ¹H-ЯМР-спектроскопии, чистота – хроматографическими методами.

The method of preparative purification of the obtained 3-(2-choyl-1,3,4-oxadiazolyl)-coumarin by HPLC for further study of their fluorescent properties was proposed. The structure of the compounds was confirmed by ¹H-NMR spectroscopy. Purity of compounds was confirmed by chromatography.

Інтенсивний розвиток методів аналізу, заснованих на використанні флуоресценції, зробив їх одними із найважливіших експериментальних методів у багатьох наукових дисциплінах. Застосування флуоресцентних міток у біотехнології та медицині призвело до появи і розвитку методів реєстрації біоспецифічних взаємодій, що застосовують у медичній діагностиці й різноманітних біологічних аналізах [1–3]. У якості флуоресцентних барвників найчастіше використовують поліциклічні ароматичні сполуки, похідні кумаринів, хінолінів, індолів, імідазолів, флуоресцеїну, родаміну тощо [4–6], що модифікують для надання потрібних властивостей (спорідненість до біологічних мембран або рідин, розчинність, ліпофільність).

Відомо, що природна холева кислота містить бідентатну та поліфункціональну структуру, має низьку токсичність і високу біологічну доступність [7,8]. Хемосенсиори на базі холевої кислоти є дуже привабливими системами для аналізу біологічних процесів [9,10], адже поєднують амфифільну (відповідає за селективність сольватування) і флуорофорну частину (відповідає за передачу аналітичного сигналу).

Раніше запропоновано синтетичні підходи до створення здатних до флуоресценції сполук на базі кумаринового ядра, що містили залишок холевої кислоти, приєднаний через 1,3,4-оксадіазольний місток [11].

Мета роботи

Розробка методів препаративної очистки отриманих синтетичних 3-(2-холіл-1,3,4-оксадіазоліл)-кумаринів для подальшого вивчення їх флуоресцентних властивостей.

Матеріали і методи дослідження

Препаративне виділення проводили на хроматографі Varian ProStar у комплектації: градієнтна система високого тиску ProStar 210; спектрофотометричний детектор ProStar 325; вузол ручного вводу з об'ємом дозуючої петлі 1 мл. Колонка – Диасорб-130-C16T (250×15 мм, 7 мкм). Спектри ¹H-ЯМР отримано на спектрометрі Varian WXR-400 (робоча частота 400 MHz) в ДМСО-d₆, внутрішній стандарт – ТМС.

Результати та їх обговорення

3-(2-Холіл-1,3,4-оксадіазоліл)-кумарини **1a-1g** (рис. 1), отримані в результаті синтезу у декілька стадій, містили домішки напівпродуктів реакцій (гідразид холевої кислоти, 2-імінокумарини, 2-холілгідразо-кумарин-3-карбоксаміди) і побічних продуктів реакцій.

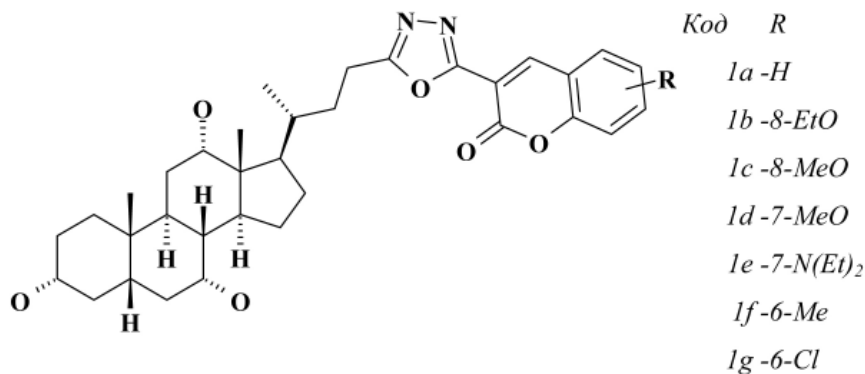


Рис. 1. 3-(2-Холіл-1,3,4-оксадіазоліл)-кумарини.

Для препаративної хроматографії готували розчини сполук для очистки з концентрацією приблизно 25–50 мг/мл. Зразки **1a–e** розчиняли у суміші ацетонітрил – метанол (1:1), **1f–g** у суміші ацетонітрил – метанол – тетрагідрофуран (1:1:0,2). У якості рухомої фази А використовували 45% ацетонітрил, рухомої фази В – 90% ацетонітрил. Швидкість подання рухомої фази складала 4,5 мл/хв.

Добір умов хроматографування проводили за довжини хвилі 235 нм (відповідає максимуму поглинання залишку холевої кислоти). Інжекція – еквівалент 2 мг суміші для розділення. За таких умов спостерігали чіткий аналітичний сигнал детектора (рис. 2, верхня хроматограма, на прикладі сполуки **1e**). Препаративне розділення проводили за довжини хвилі 270 нм (очікуваний мінімум поглинання, обраний для запобігання надмірної інтенсивності піків внаслідок збільшення концентрації аналіта у 15–25 разів). Інжекція – еквівалент 30–50 мг суміші для розділення. Аналітичний сигнал детектора внаслідок високої концентрації аналіта у розчині виходив за межі діапазону вимірювання детектора, що утруднювало ідентифікацію меж піків основної речовини і домішок (рис. 2, нижня хроматограма, на прикладі сполуки **1e**).

Співвідношення рухомих фаз А та В, обраних для препаративного виділення, склало для зразків **1a, 1c, 1d, 1f** – 30:70, для **1b, 1e, 1g** – 50:50. Час утримування фракцій цільових сполук: **1a** – 21,4–24,0 хв; **1b** – 13,6–15,7 хв;

1c – 16,3–18,1 хв; **1d** – 21,9–24,1 хв; **1e** – 12,6–15,4 хв; **1f** – 21,5–23,5 хв; **1g** – 22,4–26,0 хв.

Фракції збирали вручну. Однакові фракції після декількох інжекцій об'єднували і концентрували на роторному випарнику при 35–50°C та залишковому тиску близько 10^{-2} атм та перекристалізували з ацетонітрилу. Зразки ідентифікували за допомогою методу ^1H -ЯМР-спектроскопії.

Оскільки цільова сполука виходила з колонки не останньою, для зменшення загального часу аналізу використано метод введення наступної проби до закінчення попередньої хроматограми з розрахунком, щоб потрібний аналіт виходив у вільній від домішок попередньої хроматограми області. Так, на прикладі очистки сполуки **1b** на рис. 3 наведено хроматограму одиночного вводу зразка. Час хроматографування складав близько 55 хвилин.

На рис. 4 наведено хроматограму у режимі «серійного» введення зразків сполуки **1b**. Час хроматографування 5 проб склав близько 160 хвилин (замість 275 хвилин), що дозволило економити близько 40% часу.

Результати ^1H -ЯМР для очищених 3-(2-холіл-1,3,4-оксадіазоліл)-кумаринів (або похідних 3-(5-((R)-3-((3R,5S,7R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,7,12-тригідрокси-10,13-диметилгексадекагідро-1Н-циклопента[а]фенантрен-17-іл)бутил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2Н-хромен-2-ону) наведено нижче.

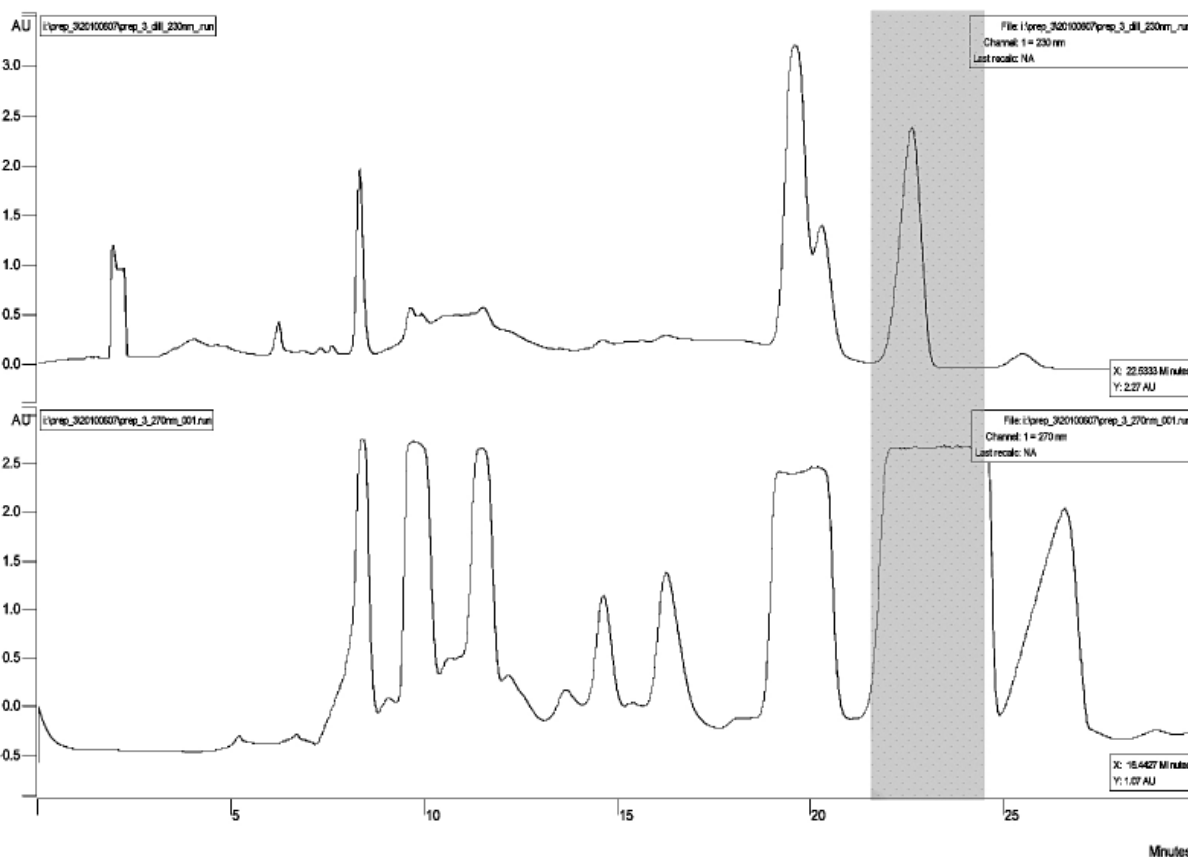


Рис. 2. Хроматограми сполуки **1e**. Кольором виділено цільову фракцію.

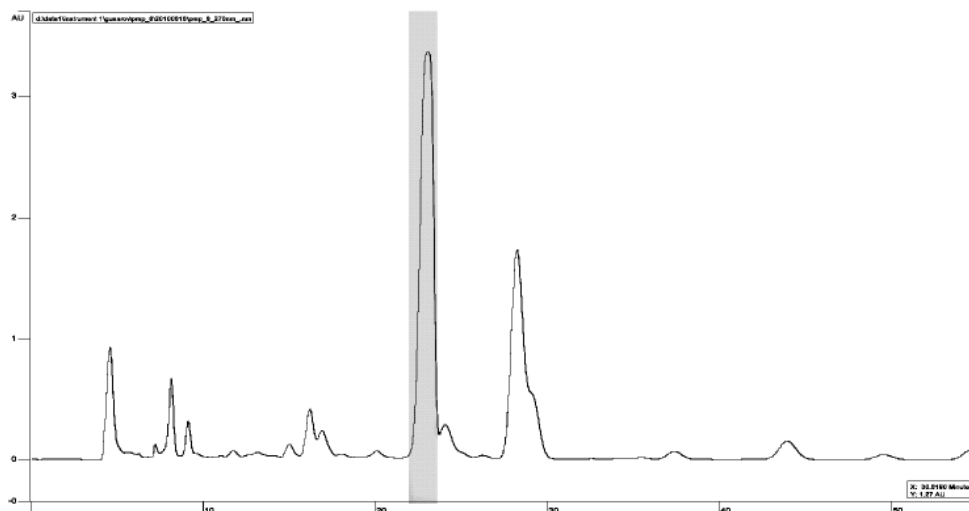


Рис. 3. Хроматограми сполуки **1b**. Кольором виділено цільову фракцію.

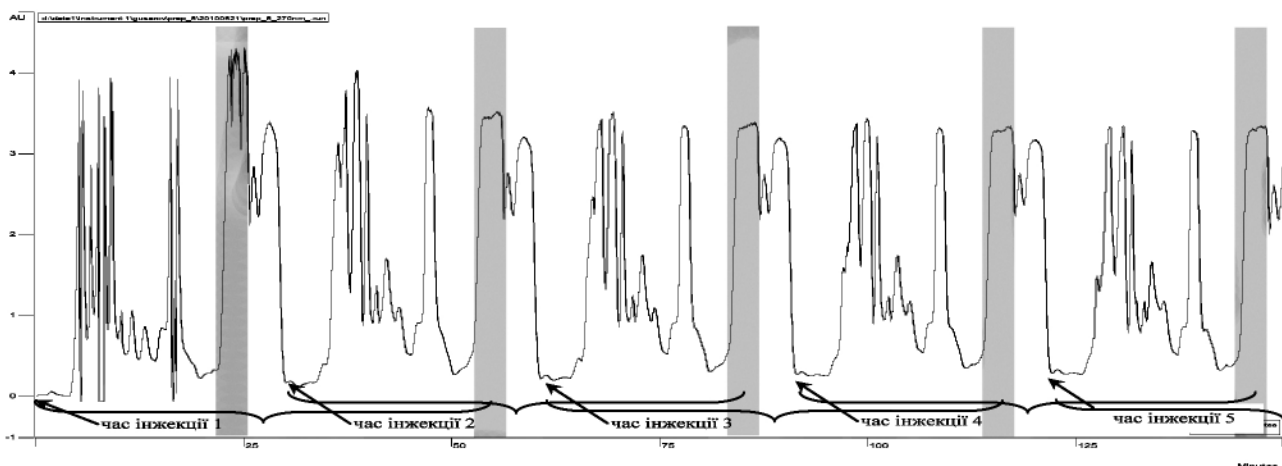


Рис. 4. Хроматограми сполуки **1b**. «Серійне» введення.

Сполука **1a**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.56 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.90 (s, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.88 (s, 1H), 3.99 (d, 1H), 4.12 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 7.45 (s, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.86 (s, 1H).

Сполука **1b**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-8-OEt-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.57 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.91 (s, 2H), 3.58 (s, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.99 (d, 1H), 4.05 – 4.25 (m, 3H), 7.41 (tt, 3H), 8.90 (s, 1H).

Сполука **1c**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-8-OMe-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.58 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.89 (s, 2H), 3.59 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.99 (d, 1H), 4.13 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 7.41 (tt, 3H), 8.80 (s, 1H).

Сполука **1d**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-7-OMe-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.59 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.88 (s, 2H), 3.17 (s, 1H), 3.60 (s, 1H), 3.78 (s, 1H), 3.99 (d, 1H), 4.14 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 6.95 – 7.15 (m, 2H), 7.86 (d, 1H), 8.76 (s, 1H).

Сполука **1e**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-7-(Et)₂N-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.55 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.81 (s, 2H), 3.13 (s, 1H), 3.60 (s, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.99 (d, 1H), 4.14 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.78 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 8.52 (s, 1H).

Сполука **1f**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-6-Me-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.54 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.89 (s, 2H), 3.59 (s, 1H), 3.80 (s, 1H), 3.99 (d, 1H), 4.14 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.71 (s, 1H), 8.73 (s, 1H).

Сполука **1g**. 3-{5-(3 α ,7 α ,12 α -тригідроксихоліл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл}-6-Cl-кумарин. ^1H -ЯМР: 0.58 (s, 3H), 0.70-2.35 (m, стероїдні CH та CH₂), 2.88 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.99 (d, 1H), 4.13 (d, 1H), 4.30 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.66 (s, 1H).

ВИСНОВКИ

Розроблено методи препаративної хроматографічної очистки синтезованих 3-(2-холіл-1,3,4-оксадіазоліл)-кумаринів. Структуру сполук підтверджено даними ^1H -ЯМР-спектроскопії, чистоту – хроматографічними методами.

Список літератури

1. *Lakowicz J.R.* Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol. 3: Biochemical Applications / Lakowicz J.R. – Springer, 1992. – 408 p.
2. *Tsien R.Y.* Fluorescence readouts of biochemistry in live cells and organisms // *Molecular Imaging: Principles and Practice*, ed. by R. Weissleder, S.S. Gambhir, B.D. Ross, A. Rehemtulla. – People's Medical Publishing House, 2010. – P. 808–828.
3. *Иванова С.В.* Использование флуоресцентных методов в медицине / С.В. Иванова, Л.Н. Кирпиченко // *Медицинские новости*. – 2008. – №12. – С. 56–61.
4. *Lavis L.D.* Tailoring Fluorescent Molecules for Biological Applications: A dissertation ... Doctor of Philosophy / University of Wisconsin-Madison, 2008. – P. 10–24.
5. *Wagner B.D.* The Use of Coumarins as Environmentally-Sensitive Fluorescent Probes of Heterogeneous Inclusion Systems / B.D. Wagner // *Molecules* 2009. – Vol. 14, Is. 31. – P. 210–237.
6. *Signore G.* A Novel Coumarin Fluorescent Sensor to Probe Polarity Around Biomolecules / G. Signore, R. Nifosi, L. Albertazzi, R. Bizzarri // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2009. – Vol. 5, №6. – P. 722–729.
7. *Mukhopadhyay S.* Chemistry and biology of bile acids / S. Mukhopadhyay, U. Maitra // *Current Science*. – 2004. – Vol. 87, №12. – P. 1666–1683.
8. *Monte M.J.* Bile acids: Chemistry, physiology, and pathophysiology / M. J. Monte, J. J. Marin, A. Antelo, J. Vazquez-Tato // *World Journal of Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 15, №7. – P. 804–816.
9. WO 2002012267, IPC C07J 41/00. Method for the production of fluorescein bile acid derivatives / Mills Ch.O., Cox I.D., Hartley D.J., Burley I. – № PCT/GB2001/003559; Filing Date: Aug 8, 2001; Pub. Date: Feb 14, 2002.
10. *Holzinger F.* Fluorescent Bile Acid Derivatives: Relationship Between Chemical Structure and Hepatic and Intestinal Transport in the Rat / F. Holzinger, C.D. Scheingart, H.T. Ton-Nu et al. // *Hepatology*. – 1997 –Vol. 26, №5. – P. 1263–1271.
11. Заявка а 2012 01117 Україна, МПК C07C 35/52, C07C 49/563, C07D 271/10, C07D 311/74, C07D 413/02, C07J 9/00, C07J 75/00. 3-(5-((R)-3-((3R,5S,7R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,7,12-Тригідрокси-10,13-диметилгексадекагідро-1Н-циклопента[а]фенантрен-17-іл)бутил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-2Н-хромен-2-он та його похідні / С.М. Коваленко, П.В.Ніколаєнко, В.І. Гусаров, О.В. Заремба. – Заявл. 03.02.12 р.

Відомості про авторів:

Гусаров В.І., аспірант каф. управління якістю НФаУ, м. н .с. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

Коваленко С.М., д. хім. н., професор, зав. каф. управління якістю НФаУ, зав. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

Заремба О.В., н. с. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

Гусарова Т.Д., к. фарм. н., провідний фахівець з управління якістю науково-дослідного відділу забезпечення наукових досліджень науково-дослідної частини НФаУ.

Надійшла в редакцію 28.08.2012 р.



Н.М. Дармограй, І.Й. Галькевич

Розробка умов ізолювання міртазапіну з біологічного матеріалу

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Ключові слова: антидепресанти, міртазапін, біологічний матеріал, методи ізолювання, екстракційна фотометрія.

Ключевые слова: антидепрессанты, мirtазапин, биологический материал, методы изолирования, экстракционная фотометрия.

Key words: antidepressants, mirtazapine, biological material, methods of isolation, extraction photometry.

Вивчено ефективність ізолювання міртазапіну різними розчинниками (водою, підкисленою оксалатною, сульфатною та перхлоратною кислотами, підкисленими етиловим спиртом і ацетонітрилом). Кількісний вміст міртазапіну у виділених екстрактах визначали екстракційно-фотометричним методом за реакцією утворення іонного асоціату з кислотним азобарвником метиловим оранжевим.

Изучена эффективность изолирования мirtазапина различными растворителями (водой, подкисленной оксалатной, серной и перхлоратной кислотами, подкисленными этиловым спиртом и ацетонитрилом). Количественное содержание мirtазапина в выделенных экстрактах определяли экстракционно-фотометрическим методом по реакции образования ионного ассоциата с кислотным азокрасителем метиловым оранжевым.

The effectiveness of isolating of mirtazapine by different solvents (water, acidified with oxalate, sulfate and perchloric acids and acidified ethanol and acetonitrile) was studied. The quantitative determination of mirtazapine in the extracts was carried out by extraction photometry by reaction of ionic associate formation of mirtazapine with methyl orange, the acidic azo dye.

У медичній практиці для лікування депресивних розладів різноманітної етіології застосовують міртазапін. За механізмом фармакологічної дії він належить до норадренергічних і специфічних серотонінергічних антидепресантів [1]. У хімічному відношенні це (\pm) -1,2,3,4,10,14b-гексагідро-2-[11С] метилпіразино(2,1-а)піридо(2,3-с)(2)бензазепін.

Останнім часом зареєстровано випадки смертельних отруєнь міртазапіном. Слід зазначити, що більшість випадків таких отруєнь описують у зв'язку з прийомом цього препарату разом з антидепресантами інших груп, особливо з СИЗС та ТЦА [4].

Оскільки патоморфологічна картина отруєнь міртазапіном є нехарактерною, важливе значення мають результати судово-токсикологічних досліджень біологічного матеріалу на вміст у ньому токсичних речовин.

У спеціалізованій літературі описано методики визначення міртазапіну в біологічних рідинах (крові, сечі). Для аналізу зазначеного антидепресанта в отриманих екстрактах використовували методи газорідинної хроматографії з мас-спектрометрією [6], високоефективної рідинної хроматографії [5], рідинної хроматографії з мас-спектрометрією [8], капілярного електрофорезу [7]. Названі методики характеризуються високою чутливістю і специфічністю, але потребують ретельної пробопідготовки та спеціального дорогого обладнання, що робить їх малодоступними.

Мета роботи

Оскільки в проаналізованій науковій літературі недостатньо даних щодо виділення міртазапіну з органів трупного матеріалу, мета дослідження полягала у визначенні ефективності виділення міртазапіну загальноприйнятими у судово-токсикологічному аналізі методами: настоюванням з водою, підкисленою оксалатною кислотою (метод О.О. Васильєвої), настоюванням з водою,

підкисленою сульфатною кислотою (метод В.П. Крамаренка), настоюванням з етанолом, підкисленим оксалатною кислотою (метод Стаса-Отто). Для ізолювання міртазапіну застосовували також воду, підкислену 20% розчином перхлоратної кислоти, та ацетонітрил, підкислений 1 М розчином хлоридної кислоти. Для кількісного визначення міртазапіну, виділеного з біологічного матеріалу, запропоновано метод екстракційної фотометрії.

Матеріали і методи дослідження

Ефективність методик ізолювання міртазапіну з проб біологічного матеріалу вивчали на модельних сумішах. Для цього в ряд хімічних стаканів вносили по 25 г печінки людини, яка загинула від травми, і в кожену пробу вносили по 600 мкг міртазапіну у вигляді водного розчину. Проби залишали на 24 год при кімнатній температурі, після чого проводили ізолювання міртазапіну різними методиками. Паралельно ставили контрольні досліди з біологічним матеріалом.

За даними, отриманими при вивченні екстракції міртазапіну з водних розчинів органічними розчинниками, встановлено, що міртазапін краще екстрагується хлороформом з лужного середовища. Максимальний ступінь екстракції міртазапіну хлороформом визначено при рН 7,0–8,0 (до 91,6%). Тому при ізолюванні досліджуваного препарату з біологічного матеріалу його екстрагували з витяжок хлороформом у цьому інтервалі значень рН.

Виділення міртазапіну з печінки водою, підкисленою оксалатною або сульфатною кислотами, та етанолом, підкисленим оксалатною кислотою. Ізолювання досліджуваного препарату проводили водою та етанолом, підкисленими оксалатною кислотою, а також водою, підкисленою сульфатною кислотою, згідно із загальноприйнятими методиками [2].

Виділення міртазапіну з печінки водою, підкисленою 20% перхлоратною кислотою. Проби біологічного ма-

теріалу заливали водою, підкислювали 20% розчином перхлоратної кислоти до рН 2,0–3,0 (за універсальним індикатором) і настоювали протягом 2 год, періодично перемішуючи. Кислі водні витяжки зливали в колби, а проби печінки ще раз настоювали з водою, підкисленою 20% розчином перхлоратної кислоти до рН 2,0–3,0. Витяжки об'єднували і проціджували через подвійний шар марлі. Проціджені витяжки центрифугували протягом 15 хв зі швидкістю 3000 об/хв. Центрифугати зливали, переносили в ділительні лійки, підлужнювали 25% розчином аміаку до рН 7,0–8,0 та тричі екстрагували хлороформом порціями по 10, 10 та 5 мл. Хлороформові екстракти об'єднували та випаровували досуха. Сухі залишки розчиняли в 5,0 мл 96% етанолу і досліджували методом екстракційної фотометрії. Паралельно досліджували контрольні проби, отримані з біологічного матеріалу, що не містив міртазапін.

Виділення міртазапіну з печінки підкисленим ацетонітрилом. Суміші біологічного матеріалу з міртазапіном заливали ацетонітрилом до повного покриття твердих часточок, підкислювали 1 М розчином кислоти хлоридної до рН 2,0 (за універсальним індикатором) і настоювали протягом 30 хв при перемішуванні. Настоювання з підкисленим ацетонітрилом проводили двічі. Витяжки

проціджували через марлю та об'єднували, додавали воду, об'єм якої у тричі більший ніж об'єм витяжки, підлужнювали 25% розчином аміаку до рН 7,0–8,0 і тричі екстрагували хлороформом порціями по 10, 10 та 5 мл. Хлороформні екстракти об'єднували, випаровували досуха та розчиняли в 5,0 мл 96% етанолу. В етанольних розчинах визначали вміст міртазапіну.

Для кількісного визначення використовували по 1,0 мл етанольних розчинів. Результати виділення міртазапіну з проб печінки різними методами наведено у таблиці 1.

Для кількісного визначення міртазапіну досліджено реакційну здатність препарату з рядом барвників (метиловим оранжевим, бромтимоловим синім, бромкрезоловим зеленим). Встановлено, що найстійкішими й найінтенсивніше забарвленими були розчини препарату з метиловим оранжевим.

В універсальному буферному розчині при рН 3,5 міртазапін з цим кислотно-основним індикатором утворює стійкий іонний асоціат, що екстрагується хлороформом. Для проведення реакції достатньо 0,1 мл 0,1% розчину метилового оранжевого. Для підсилення чутливості методу проводили реекстракцію барвника 0,1 М розчином хлоридної кислоти.

Таблиця 1

Результати виділення міртазапіну з печінки (середнє з 5 паралельних визначень)

Метод ізолювання	Внесено міртазапіну до 25 г печінки, мкг	Визначено міртазапін		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
Настоювання з водою, підкисленою кислотою оксалатною (метод О.О. Васильєвої)	600	97,5	16,3	$\bar{X} = 16,7$ $S = 0,25$ $S_{\bar{X}} = 0,25$ $\bar{X} \pm \Delta X = 16,7 \pm 0,25$ $\varepsilon = \pm 1,5 \%$
		100	16,7	
		102,5	17,0	
		100	16,7	
		100	16,7	
Настоювання з водою, підкисленою кислотою сульфатною (метод В.П. Крамаренка)	600	147,5	24,6	$\bar{X} = 24,7$ $S = 0,33$ $S_{\bar{X}} = 0,45$ $\bar{X} \pm \Delta X = 24,7 \pm 0,45$ $\varepsilon = \pm 1,36 \%$
		145	24,2	
		150	25,0	
		147,5	24,6	
		150	25,0	
Настоювання з етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (метод Стаса-Отто)	600	75	12,5	$\bar{X} = 12,4$ $S = 0,26$ $S_{\bar{X}} = 0,27$ $\bar{X} \pm \Delta X = 12,4 \pm 0,27$ $\varepsilon = \pm 2,1 \%$
		77	12,8	
		73	12,1	
		74	12,3	
		75	12,5	
Настоювання з підкисленим ацетонітрилом	600	270	45,0	$\bar{X} = 45,06$ $S = 0,19$ $S_{\bar{X}} = 0,15$ $\bar{X} \pm \Delta X = 45,06 \pm 0,15$ $\varepsilon = \pm 0,43 \%$
		271	45,2	
		269	44,8	
		272	45,3	
		270	45,0	
Настоювання з водою, підкисленою 20% розчином кислоти перхлоратної	600	75	12,5	$\bar{X} = 12,4$ $S = 0,23$ $S_{\bar{X}} = 0,2$ $\bar{X} \pm \Delta X = 12,4 \pm 0,2$ $\varepsilon = \pm 1,83 \%$
		74	12,3	
		75	12,5	
		73	12,1	
		76	12,7	

Побудова градувального графіку. Для побудови градувального графіку використовували водний розчин міртазапіну з концентрацією 120 мкг в 1 мл. У ряд ділительних лійок вносили по 9,0 мл універсального буферного розчину зі значенням рН 3,5, по 0,1 мл 0,1% водного розчину метилового оранжевого та по 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 і 0,7 мл стандартного водного розчину міртазапіну. Іонний асоціат двічі екстрагували хлороформом (порціями по 6,0 та 5,0 мл). Хлороформні екстракти об'єднували, поміщали у ділительні лійки і проводили реекстракцію 0,1 М розчином хлоридної кислоти (двічі по 5,0 та 5,0 мл). Отримані кислі розчини доводили дистильованою водою до 10 мл. Паралельно готували розчин порівняння.

Оптичну густину отриманих розчинів вимірювали за допомогою спектрофотометра СФ-56 при довжині хвилі 510 нм ($l=1$ см). Як розчин порівняння використовували контрольну пробу.

Використану методику застосовували для кількісного визначення міртазапіну, виділеного з проб печінки. Для кількісного визначення використовували по 1,0 мл етанольних розчинів.

Результати та їх обговорення

При побудові градувального графіку встановлено, що оптична густина забарвлених розчинів підпорядковується основному закону світлопоглинання в межах концентрацій міртазапіну від 6 до 84 мкг в 10 мл кінцевого

об'єму. Вміст міртазапіну в пробах визначали, користуючись рівнянням прямої, що розраховували методом найменших квадратів [3]: $A = 0,012C + 0,058$ (A – оптична густина; C – концентрація міртазапіну, мкг/мл).

Встановлено, що водою, підкисленою перхлоратною кислотою, та етанолом, підкисленим оксалатною кислотою, можна виділити до 12,4% міртазапіну. Дещо вищі результати отримали при використанні води, підкисленої оксалатною та сульфатною кислотами (відповідно 16,7% та 24,7%). Найбільші кількості міртазапіну (до 45,06%) ізолювали ацетонітрилом, підкисленим 1 М розчином хлоридної кислоти.

Висновки

Вивчено ефективність ізолювання міртазапіну з проб печінки водою, підкисленою оксалатною, сульфатною та перхлоратною кислотами, етанолом, підкисленим оксалатною кислотою, та підкисленим ацетонітрилом.

Найкращим екстрагентом для виділення міртазапіну з біологічного матеріалу є підкислений ацетонітрил. При цьому з модельних зразків досліджуваного біологічного матеріалу можна виділити до 45,06% міртазапіну.

Для кількісного визначення міртазапіну, виділеного з біологічного матеріалу, розроблено умови екстракційної фотометрії на основі реакції з метиловим оранжевим при рН 3,5.

Список літератури

1. Компендиум 2008 – лекарственные препараты: В 2-х т. / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2008. – Т. 2.
2. Крамаренко В.П. Токсикологічна хімія / Крамаренко В.П. – К.: Вища школа, 1995. – С. 158–183.
3. Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа / Чарыков А.К. – Л.: Химия, 1984. – 168 с.
4. Álvarez E. Mirtazapine in combination / Álvarez E., Viñas F. // Actas Esp Psiquiatr. – 2010. – V. 38, №2. – P. 121–128.
5. Hong X. LC–MS–MS Analysis of Mirtazapine in Plasma, and Determination of Pharmacokinetic Data for Rats / Hong X., Yao Y., Hong S. // Chromatographia. – 2008. – V. 68, №1–2. – P. 65–70.
6. Sarah M. Determination of antidepressants in human postmortem blood, brain tissue, and hair using gas chromatography–mass spectrometry / Sarah M. [et al.]. // International Journal of Legal Medicine. – 2008. – V. 123, №6. – P. 451–458.
7. Santana F. Capillary electrophoretic chiral determination of mirtazapine and its main metabolites in human urine after enzymatic hydrolysis / Santana F., Lanchote V., Bonato P. // Electrophoresis. – 2008. – V. 29, №18. – P. 3924–3932.
8. Santana F. Enantioselective analysis of mirtazapine and its two major metabolites in human plasma by liquid chromatography–mass spectrometry after three-phase liquid-phase microextraction / Santana F., Bonato P. // Anal Chim Acta. – 2008. – V. 606, №1. – P. 80–91.

Відомості про авторів:

Дармограй Н.М., аспірант каф. токсикологічної та аналітичної хімії ЛНМУ ім. Д. Галицького.

Галькевич І.Й., к. фарм. н., доцент каф. токсикологічної та аналітичної хімії ЛНМУ ім. Д. Галицького.

Надійшла в редакцію 27.03.2012 р.



М.В. Дячков, О.С. Шкода, К.В. Александрова, С.В. Левіч

Синтез і фізико-хімічні властивості 7-заміщених 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: похідні ксантину, синтез, ПМР-спектроскопія.

Ключевые слова: производные ксантина, синтез, ПМР-спектроскопия.

Key words: xanthine's derivatives, synthesis, NMR-spectroscopy.

Розроблено препаративну методику отримання невідомих 7-заміщених похідних 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів, структуру яких підтверджено даними елементного аналізу та ПМР-спектроскопії.

Разработана препаративная методика получения неизвестных 7-замещенных производных 3-арил(аралкил)-8-гидроксиметилксантинов, структура которых подтверждена данными элементного анализа и ПМР-спектроскопии.

The preparative methods for the 7-substituted derivatives of 3-aryl(aralkyl)-8-hydroxymethylxanthines was developed. The structures of synthesized were proved by elemental analysis and NMR-spectroscopy data.

Однією з основних задач сучасної хімічної науки є розробка препаративних методів синтезу біологічно активних сполук, потенційних лікарських засобів. У зв'язку з цим, актуальним є напрямок модифікації молекул природних гетероциклів, зокрема похідних пурину, ксантину, що проявляють різноманітні види біологічної дії (антиоксидантну, анальгетичну, протизапальну, протипіщмічну тощо) [1–5]. Значну зацікавленість у цьому плані становлять синтетичні методи отримання невідомих похідних 3-арил(аралкіл)ксантину.

Мета роботи

Розробка препаративного методу синтезу невідомих 7-заміщених 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів і вивчення їх фізико-хімічних властивостей.

Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТМ (М). Елементний аналіз виконано на приладі Elementar Vario L cube, ПМР-спектри знято на спектрометрі Varian Mercury VX-200 (розчинник ДМСО-*d*₆, внутрішній стандарт – ТМС).

7-Заміщені похідні 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантину (2а-г)

До 0,01 моль сполуки 1а-с додають 15 мл ДМФА та 0,011 моль натрій гідрокарбонату, кип'ятять до повного розчинення. Після цього додають 0,011 моль відповідного алкілуючого реагенту та кип'ятять протягом 2 год. Фільтрують розчин у гарячому вигляді, фільтрат охолоджують, виливають у 50 мл води. Осад, що утворився,

відфільтровують, промивають водою, сушать при 70°C. Для аналізу отримані речовини перекристалізують з етанолу.

Результати та їх обговорення

Раніше описано синтез 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів [6].

Аналіз структури молекул 3-арил-8-гідроксиметилксантинів вказує на наявність трьох нуклеофільних реакційних центрів, що дозволяють проводити реакції алкілювання. Це атоми Нітрогену в положеннях «1» та «7» ксантинового біциклу, а також атом Оксигену гідроксиметильного залишку у восьмому положенні. Вірогідність перебігу реакцій нуклеофільного заміщення може бути передбачена за допомогою прогностичних методів, що дозволяють розрахувати термодинамічні та кінетичні характеристики хімічних процесів. З позиції хімічної термодинаміки напрямок перебігу реакції заміщення визначається зниженням вільної енергії системи, згідно рівняння Гіббса ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$), тобто переважно утворюється продукт з меншим значенням ентальпії утворення (ΔH – ентальпійний фактор), оскільки впливом ентропійного фактору (добуток $T\Delta S$) при однакових умовах проведення реакції з однаковими реагентами можна знехтувати.

Для вивчення регіоселетивності перебігу реакції S_N виконано розрахунки *in silico* теплот утворення (ΔH) N^1 -, N^7 - та O -ізомерів 3-феніл- (*n*-толіл, бензил)-8-гідроксиметилксантинів у програмному комплексі

Таблиця 1

Розрахункові значення теплот утворення (ΔH) вірогідних ізомерів синтезованих сполук

Субстрат	Реагент	N^1 -ізомер (ΔH , кДж/моль)		N^7 -ізомер (ΔH , кДж/моль)		O -ізомер (ΔH , кДж/моль)	
		AM1-метод	PM3-метод	AM1-метод	PM3-метод	AM1-метод	PM3-метод
1b	Хлорометилбензол	59,64515	-145,06730	65,75445	-137,30933	40,87765	-143,00057
1c		71,18439	-105,14273	16,72526	-151,22156	52,87405	-109,80850
1b	β -Хлороетилбензол	16,36247	-175,36625	-12,74558	-194,56993	7,22901	-162,82076
1a	α -Хлороацетофенон	-36,86465	-246,03630	-8,71625	-196,84625	-42,33119	-228,03038
1c		-96,15786	-280,00552	-57,20199	-244,11573	-65,57714	-239,26700
1a	4-Метокси- α -Хлороацетофенон	-214,28294	-439,18975	-233,43922	-415,57281	-214,64007	-385,90175
1b		-246,70614	-448,47779	-229,76606	-430,56092	-214,85372	-386,10837
1c		-209,59016	-404,77195	-206,92095	-393,54400	-222,16944	-392,96844

WinMoras (ver. 7.2, предиктор – Heat of Formation, напів-емпіричні методи AM1 та PM3) [7]. Результати розрахунків наведено в *таблиці 1*, з якої видно, що перебіг реакцій S_N з урахуванням термодинамічних розрахунків однаково імовірний як з утворенням N^1 -ізомеру, так і з утворенням N^7 - та O -ізомерів. Це узгоджується з положенням про обмеження адитивних методів розрахунку молекулярних предикторів (QSPR-аналіз), оскільки вони враховують властивості молекули тільки як суму властивостей типових атомів, без урахування їх взаємного впливу [8]. Тобто зробити певний висновок про напрямок перебігу реакцій алкілування 3-арил-8-гідроксиметилксантинів (**1a-c**) лише на підставі розрахунку термодинамічних параметрів, на наш погляд, неможливо.

Тому основну увагу зосереджено на кінетичних параметрах. Для цього здійснено аналіз функцій кислотності сполук **1a-c** як показника стабільності аніонів взаємопов'язаних основ. Відомо, що розрахунки показника кислотності (pKa) можна здійснювати як розрахунковими (*in silico*-аналіз), так і експериментальними (*in vitro*) методами. Оскільки константа іонізації досить

добре корелює з квантово-хімічними дескрипторами [9], в першу чергу розраховано pKa синтезованих сполук **1a-c** за допомогою програми «Chemicalize.org» [10] (*табл. 2*).

Таблиця 2
Розраховані значення pKa сполук **1a-c**

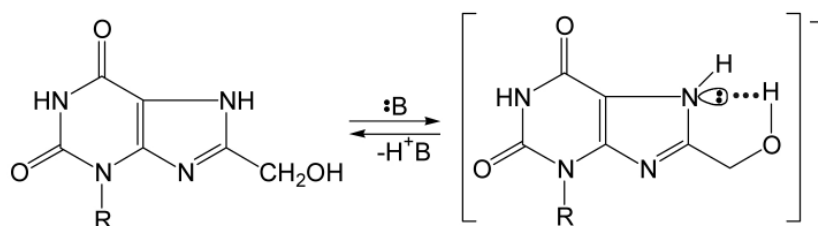
Сполука	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃
1a	6,54	10,77	14,81
1b	6,57	10,78	14,85
1c	6,76	10,86	14,82

За даними програмного комплексу «Chemicalize.org» дисоціація 3-арил-8-гідроксиметилксантинів (**1a-c**) як трьохосновних кислот перебігає за схемою 1.

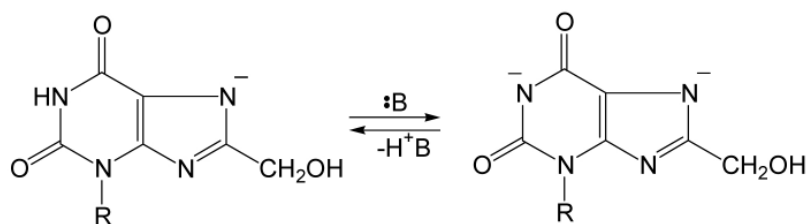
Аналіз отриманих даних (*табл. 2, схема 1*) свідчить, що вихідні сполуки **1a-c** є кислотами, дисоціація яких за першим ступенем (K_1) перебігає з утворенням ароматичного імідазолій-аніону, частково стабілізованого внутрішньомолекулярним водневим зв'язком між sp^2 -гібридизованим атомом Нітрогену в положенні «7» ксантинового біциклу та атомом Гідрогену гід-

Схема 1

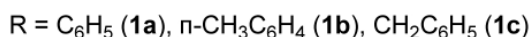
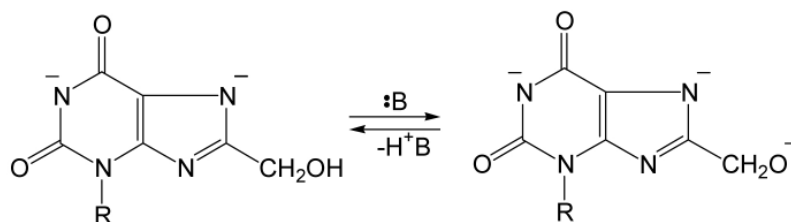
I Ступінь дисоціації, K_1



II Ступінь дисоціації, K_2



III Ступінь дисоціації, K_3



роксильної групи замісника у восьмому положенні. Тобто напрямок процесу алкілювання 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів такий: $N^7H \rightarrow N^1H \rightarrow C^8CH_2OH$, а регіоселективність реакції може бути визначена використанням різних за силою основ, що зміщують рівновагу дисоціації та каталізують взаємодію.

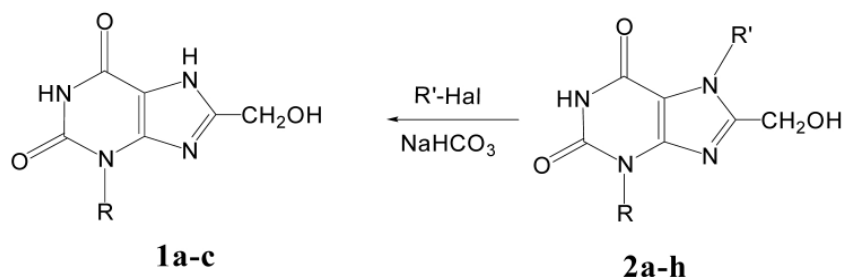
На основі наведених даних здійснено синтез

7-заміщених 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів (**2a-h**) (схема 2).

Будову отриманих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ПМР-спектроскопії (табл. 3).

У ПМР-спектрі сполуки **2b** відсутній синглет імідазольного (N^7-H) фрагмента в області 13,48 м.ч., натомість фіксується синглет протонів при 5,95 м.ч., який можна

Схема 2



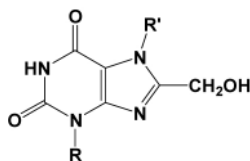
R = $-C_6H_5$ (**1a**, **2a**, **2b**); $-C_6H_4CH_3-p$ (**1b**, **2c**, **2d**, **2e**); $-CH_2C_6H_5$ (**1c**, **2f**, **2g**, **2h**)

R' = $-CH_2C_6H_5$ (**2c**, **2f**); $-CH_2CH_2C_6H_5$ (**2d**); $-CH_2COC_6H_5$ (**2a**, **2g**);

$-CH_2COC_6H_4OCH_3-p$ (**2b**, **2e**, **2h**)

Таблиця 3

Властивості синтезованих 7-заміщених 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів **2a-h**



Сполука	Емпірична формула	T _{пл} , °C	Вирахувано, %	Знайдено, %	Вихід, %	ПМР (δ, м.ч., ТМС)
2a	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ O ₄	171-2	C, 63,82; H, 4,28; N, 14,89	C, 63,52; H, 4,58; N, 14,59	83	11,32 (1H, c, N ¹ H), 8,11-7,20 (10H, м, C ₆ H ₅), 5,98 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,65-5,51 (1H, c, OH), 4,45 (2H, c, C ⁸ -CH ₂)
2b	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₅	279-80	C, 62,06; H, 4,46; N, 13,79	C, 62,36; H, 4,16; N, 13,49	85	11,30 (1H, c, N ¹ H), 8,11-6,99 (9H, м, C ₆ H ₅), 5,93 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,63-5,50 (1H, c, OH), 4,48 (2H, c, C ⁸ -CH ₂), 3,89 (3H, c, O-CH ₃ -аром)
2c	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₃	211-2	C, 66,29; H, 5,01; N, 15,46	C, 66,59; H, 5,31; N, 15,16	82	11,26 (1H, c, N ¹ H), 7,79-7,12 (9H, м, C ₆ H ₅), 5,96 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,58-5,49 (1H, c, OH), 4,39 (2H, c, C ⁸ -CH ₂), 2,41 (3H, c, CH ₃ -аром)
2d	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	182-4	C, 67,01; H, 5,36; N, 14,88	C, 67,31; H, 5,06; N, 14,58	84	11,29 (1H, c, N ¹ H), 7,45-6,82 (9H, м, C ₆ H ₅), 5,60-5,51 (1H, c, OH), 4,50 (2H, т, C ⁸ -CH ₂), 4,20 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 2,50 (3H, c, CH ₃ -аром), 2,37 (2H, т, N ⁷ -C-CH ₂)
2e	C ₂₂ H ₂₀ N ₄ O ₅	275-6	C, 62,85; H, 4,79; N, 13,33	C, 62,55; H, 4,49; N, 13,03	90	11,12 (1H, c, N ¹ H), 8,05-7,02 (8H, м, C ₆ H ₅), 5,96 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,64-5,51 (1H, c, OH), 4,45 (2H, c, C ⁸ -CH ₂), 3,90 (3H, c, O-CH ₃ -аром), 2,41 (3H, c, CH ₃ -аром)
2f	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₃	68-70	C, 66,29; H, 5,01; N, 15,46	C, 66,59; H, 5,31; N, 15,76	78	11,26 (1H, c, N ¹ H), 7,79-7,12 (10H, м, C ₆ H ₅), 5,99 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,63-5,54 (1H, c, OH), 5,08 (2H, c, N ³ -CH ₂), 4,44 (2H, c, C ⁸ -CH ₂)
2g	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₄	209-10	C, 64,61; H, 4,65; N, 14,35	C, 64,31; H, 4,35; N, 14,05	84	11,30 (1H, c, N ¹ H), 7,76-7,91 (10H, м, C ₆ H ₅), 5,95 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,70-5,53 (1H, c, OH), 5,13 (2H, c, N ³ -CH ₂), 4,56 (2H, c, C ⁸ -CH ₂)
2h	C ₂₂ H ₂₀ N ₄ O ₅	100-1	C, 62,85; H, 4,79; N, 13,33	C, 62,55; H, 5,09; N, 13,03	74	11,22 (1H, c, N ¹ H), 8,09-7,21 (9H, м, C ₆ H ₅), 5,91 (2H, c, N ⁷ -CH ₂), 5,61-5,55 (1H, c, OH), 5,11 (2H, c, N ³ -CH ₂), 4,52 (2H, c, C ⁸ -CH ₂), 3,87 (3H, c, O-CH ₃ -аром)

інтерпретувати сигнал N^7-CH_2 -групи. Зафіксовано також однопротонний синглет урацького (N^1-H) фрагмента при 11,32 м.ч. Наявність ароматичних протонів підтверджується мультиплетним сигналом в області 8,06–7,12 м.ч. інтенсивністю 9 протонних одиниць. Протон гідроксильної групи резонує у вигляді мало інтенсивного триплету при 5,63–5,52 м.ч. Сигнали метилової та п-метоксигрупи замісника в 7-му положенні фіксують в області 4,50 м.ч., та 3,89 м.ч. відповідно.

Висновки

Методами *in silico*-предикції показано, що переважним для визначення напрямку перебігу реакції алкілювання 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів є кінетичний фактор.

Розроблено препаративний метод синтезу 7-заміщених 3-арил(аралкіл)-8-гідроксиметилксантинів.

Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ПМР-спектрів.

Список літератури

1. Синтез та фізико-хімічні властивості естерів ксантиніл-7-оцтової кислоти / К.В. Александрова, Д.М. Юрченко, М.І. Романенко [та ін.] // Запорозький мед. журнал. – 2010. – Т. 13, №1. – С. 7–10.
2. Исследование диуретической активности аммониевых солей 7,8-дизамещенных 3-метилксантина / А.В. Таран, В.И. Корниенко, Н.И. Романенко [та ін.] // Українській біофармацевтичний журнал. – 2010. – №3 (8). – С. 14–17.
3. Пат. 50810 Україна, МПК C07D 473/00. N-[3-метил-7-β-гідрокси-γ-4'-хлорофенокси)пропілксантин-8]аланін, який виявляє гіпохолестеринемічну дію / М.І. Романенко, О.Ю. Черчесова, А.О. Остапенко [та ін.]; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. університет. – № у 200913268; заявл. 21.12.2009; опубл. 25.06.2010, Бюл. № 12.
4. Пат. 61715 Україна, МПК C07D 473/00. Амід 4-феніл-5-(3'-метилксантиніл-7')метил-1,2,4-триазоліл-3-тіоацетатної кислоти, який виявляє діуретичну, протизапальну та анальгетичну дію / Д.М. Юрченко, К.В. Александрова, М.І. Романенко [та ін.]; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. університет. – № у 201007741; заявл. 17.01.2011; опубл. 25.07.2011, Бюл. 14.
5. Влияние 7-(2-гидрокси-3-изопропил)-3-метил-8-(4-метилпиперидин-1-ил)ксантина на показатели липидного обмена / И.М. Белаи, А.А. Остапенко, Н.И. Романенко [и др.] // Запорозький мед. журнал. – 2011. – Т. 13, №3. – С. 120–123.
6. Синтез та фізико-хімічні властивості 3-феніл(бензил)-ксантиніл-8-метилтіоацетатних кислот та їх водорозчинних солей / К.В. Александрова, С.В. Левіч, О.С. Шкода [та ін.] // Актуальні питання фармац. та мед. науки і практики. – 2011. – Вип. XXIV, №2. – С. 104–108.
7. <http://www.psu.ru/science/soft/winmopac/index.html>
8. Leach A.R. Molecular modeling: principles and applications / Leach A.R. – Pearson Education Limited, 2001. – 784 p.
9. Оценка значений констант ионизации для различных классов органических соединений с использованием фрагментного подхода к поиску зависимостей структура-свойство / Иванова А.А., Баскин И.И., Палюлин В.А., Зефирова Н.С. // Докл. АН. – 2007. – Т. 413, №64. – С. 766–770.
10. <http://www.chemicalize.org/>

Відомості про авторів:

Дячков М.В., аспірант каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Шкода О.С., к. фарм. н., ст. викладач каф. органічної та біоорганічної хімії ЗДМУ.

Александрова К.В., д. хім. н., професор, зав. каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Левіч С.В., аспірант каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 15.05.2012 р.



М.І. Романенко¹, О.О. Мартинюк¹, С.О. Васюк¹, А.С. Коржова¹, Б.А. Самура², А.В. Таран²

Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості солей N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти

¹Запорізький державний медичний університет,

²Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: ксантин, синтез, ПМР-спектроскопія, елементний аналіз, біологічна активність.

Ключевые слова: ксантин, синтез, ПМР-спектроскопия, элементный анализ, биологическая активность.

Key words: xanthine, synthesis, NMR-spectroscopy, elemental analysis, biological activity.

Розроблено прості лабораторні методи синтезу солей N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти, що виявляють діуретичну й анальгетичну дію. Будову синтезованих сполук підтверджено даними ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

Разработаны простые лабораторные методы синтеза солей N-(3-метил-7-β-метоксиэтилксантинил-8-)аминоэтановой кислоты, которые проявляют диуретическое и анальгетическое действие. Строение синтезированных соединений подтверждено данными ИК- и ПМР-спектроскопии.

Simple laboratory methods for the synthesis of N-(3-methyl-7-β-methoxyethylxanthinyl-8-) aminoethane acid salts were elaborated, which identified as diuretic and analgetic actions. The structure of synthesized substances was proved by data of IR- and NMR-spectroscopy.

Відомо, що β-гідроксиетильний замісник є фармакофорною групою і структурним фрагментом багатьох біологічно активних сполук і не дарма ряд 7-β-гідроксиетилзаміщених теофіліну використовують у медичній практиці в якості ефективних лікарських засобів (етофілін, теофібрат, гесотанол тощо) [1]. Раніше [2–5] синтезовано ряд 8-заміщених 7-β-гідроксиалкіл-3-метилксантину, що виявляють гіпотензивну, бронхолітичну, антианафілактичну, протизапальну, діуретичну дію. Зазначене свідчить про перспективу пошуку нових біологічно активних речовин (БАР) серед похідних ксантину.

Мета роботи

Пошук нових діуретичних та анальгетичних засобів у ряді 7-β-метоксиетилксантину, що могли б знайти застосування в практичній медицині.

Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капіляр-

ним способом на приладі ПТП (М). ІЧ-спектри синтезованих сполук записували на приладі фірми BrukerAlpha в області 4000–400 см⁻¹. Елементний аналіз виконано на приладі ElementarVarioLcube. ПМР-спектри знято на спектрометрі DrukerSF-400 (розчинник ДМСО-d₆ або ДМСО-d₆ + CDCl₃, внутрішній стандарт – ТМС). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Синтез 8-бромо-3-метил-7-β-метоксиетилксантину (2). Суміш 49,0г (0,2 моль) 8-бромо-3-метилксантину(1)[6], 18,5г (0,22 моль) NaHCO₃, 20,8г (0,22 моль) β-метоксиетилхлориду, 200 мл диметилформаміду (ДМФА) кип'ятять 1 годину, охолоджують до 120°C і фільтрують, фільтрат охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують, промивають льодяною водою і кристалізують з води. Фільтрат після відокремлення основного продукту випаровують у вакуумі досуха, а залишок кристалізують із води. Загальний вихід сполуки(2) 69,3% (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристики синтезованих сполук

Сполука	Т пл., °С	Брутто формула	Розраховано, %			Знайдено, %			Вихід, %
			С	Н	N	С	Н	N	
2	217–218	C ₉ H ₁₁ BrN ₄ O ₃	35,66	3,66	18,48	35,46	3,51	18,72	69,3
3	253–254	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₅	44,44	5,09	23,56	44,65	5,32	23,65	64,0
4	201–202	C ₁₃ H ₂₂ N ₆ O ₆	43,57	6,19	23,45	43,43	6,30	23,61	88,9
5	198–199	C ₁₄ H ₂₄ N ₆ O ₆	45,16	6,50	22,57	45,25	6,41	22,45	85,6
6	246–247	C ₁₇ H ₃₀ N ₆ O ₆	49,26	7,30	20,28	49,12	7,35	20,45	86,5
7	209–210	C ₁₅ H ₂₄ N ₆ O ₅	48,91	6,57	22,81	48,76	6,48	22,92	81,1
8	221–222	C ₁₆ H ₂₆ N ₆ O ₅	50,25	6,85	21,98	50,45	6,78	21,90	84,2
9	254–255	C ₁₅ H ₂₄ N ₆ O ₆	46,87	6,29	21,86	46,65	6,24	21,59	84,2
10	230–231	C ₁₆ H ₂₇ N ₇ O ₅	48,35	6,85	24,67	48,12	6,90	24,45	75,0
11	231–232	C ₁₇ H ₂₉ N ₇ O ₅	49,62	7,10	23,83	49,45	7,21	23,76	77,5
12	259–260	C ₁₅ H ₂₆ N ₆ O ₅	48,64	7,08	22,69	48,75	7,23	22,75	80,6
13	169–170	C ₁₅ H ₂₆ N ₆ O ₇	44,77	6,51	20,88	44,56	6,68	20,69	90,0

Синтез *N*-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти (3). Розчин 3,0 г (0,01 моль) бромоксантину (2), 2,25 г (0,03 моль) гліцину, 1,2 г (0,03 моль) NaOH у суміші 30 мл води та 10 мл діоксану кип'ятять 5 годин, охолоджують, фільтрують, до фільтрату додають конц. HCl до pH=2. Через 24 години осад відфільтровують, промивають холодною водою та очищують методом переосадження з водного розчину NaHCO₃.

Синтез амонійних солей *N*-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти (4–13). Суміш 2,0 г (0,0064 моль) кислоти 3, 0,01 моль відповідного аміну, 5 мл води та 20 мл ізопропілового естеру підігривають до утворення розчину і фільтрують, до фільтрату додають 50 мл ацетону і залишають при -5°C на 24 години. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають ацетоном і діетиловим етером.

Аналітичні дані синтезованих сполук (2-14) наведено в таблицях 1–3.

Гостру токсичність солей *N*-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанової кислоти вивчали за методом Кербера [7]. Вивчення діуретичної дії отриманих сполук проводили на білих щурах вагою 170–195 г за методом Є.Б. Берхіна [8]. Синтезовані сполуки вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1/100 ЛД₅₀. У якості еталону порівняння використовували гіпотіазид у дозі 25 мг/кг.

Аналгетичну дію синтезованих ксантинів вивчено на білих щурах вагою 160–185 г з використанням моделі «оцтових корчів», що викликають внутрішньоочеревинним введенням 1% водного розчину оцтової кислоти в дозі 1 мл на 100 г маси тіла тварини [9]. У якості еталону порівняння використано анальгін у дозі 25 мг/кг.

Таблиця 2

ІЧ-спектри синтезованих сполук

Сполука	ν, см ⁻¹					
	N ₁ H	CH ₃ (CH ₂ ; CH)	C=O	C=N	+NH ₂	Інші
2	3145	3015; 2943; 2888; 2807	1668	1651	–	–
3	3152; 3172	3014; 2941; 2886; 2800	1697; 1660	1616	–	–
4	3217; 3151	3007; 2944; 2898; 2816	1696; 1678	1615	–	3416 (ОН)
5	3180; 3158	2980; 2940; 2875; 2815	1677; 1643	1614	–	3329 (ОН)
6	3270; 3145	2970; 2960; 2875; 2799	1693; 1660	1620	–	–
7	3324; 3081	2976; 2961; 2886; 2792	1675	1619	2520	–
8	3312; 3122	2951; 2927; 2875; 2809	1683	1616	2530	–
9	3383; 3149	3017; 2942; 2883; 2817	1683	1610	2451	–
10	3340; 3150	3016; 2948; 2875; 2807	1678; 1661	1613	2420	–
11	3337; 3152	2980; 2945; 2890; 2822	1678	1613	2488	–
12	3343; 3154	3017; 2943; 2884; 2815	1679; 1660	1612	2500	–
13	3391; 3151	3049; 2940; 2872; 2815	1681	1613	2560	–

Таблиця 3

ПМР-спектри синтезованих сполук

Сполука	N ₁ H (с, 1H)	C ₈ NH (т, 1H)	N ₇ CH ₂ (т, 2H)	NHCH ₂ (д, 2H)	OCH ₃ (с, 3H); NCH ₃ (с, 3H)	CH ₂ O (т, 2H)	NCH ₂ (аміну)	Інші сигнали
2	11,29	–	4,38	–	3,31; 3,22	3,66	–	–
3	10,65	7,25	4,19	3,98	3,23; 3,21	3,61	–	–
4	8,76	6,69	4,14	3,68	3,27; 3,26	3,62	2,82 (т, 2H)	4,35 (т, 1H, OH); 3,57 (т, 2H, OCH ₂)
5	8,15	6,67	4,15	3,67	3,28; 3,27	3,6	2,79 (д,д, 1H); 2,56 (д,д, 1H)	4,37 (т, 1H, OH); 1,8 (д, 3H)-CH ₃ ; 3,8 (м, 1H, CHO)
8	10,91	6,69	4,16	3,66	3,27; 3,26	3,61	2,93 (т, 4H)	1,65 (м, 4H, (CH ₂) ₂); 1,54 (м, 2H, CH ₂)
9	10,61	6,98	4,18	3,82	3,27; 3,26	3,6	2,89 (т, 4H)	3,65 (т, 4H, O(CH ₂) ₂)
13	–	6,81	4,16	3,74	3,27; 3,26	3,62 (м, 6H) + O(CH ₂) ₂	2,91 (т, 4H)	4,35 (т, 2H, OH)

Результати та їх обговорення

У якості вихідної сполуки використано 8-бромо-3-метил-7-β-метоксиетилксантин (2), синтезований взаємодією 8-бромо-3-метилксантину (1) та β-метоксиетилхлориду в ДМФА за наявності еквімолярної кількості NaHCO₃ (схема 1). У ПМР-спектрі бромоксантину 2 реєструють сигнали протонів метиленових і метильної груп замісника в положенні 7 при 4,38 м.ч. (т, 2H – N₇CH₂); 3,66 м.ч. (т, 2H – OCH₂) та 3,31 м.ч. (с, 3H – OCH₃). Протони урацилової частини молекули фіксуються у вигляді синглетів при 11,29 (1H – NH) та 3,22 м.ч. (3H – NCH₃) (табл. 3).

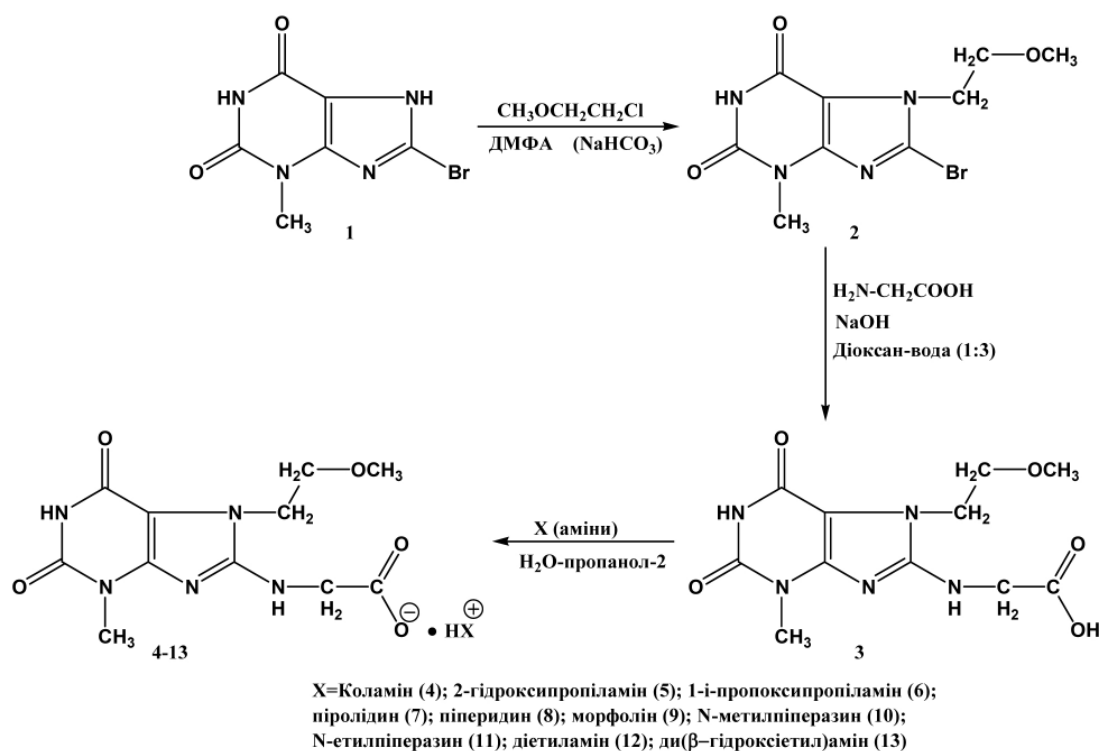
Характер сигналів, їх інтенсивність і місцеположення однозначно доводять будову вихідної сполуки.

Надалі реакцією бромоксантину 2 з гліцином у середовищі діоксан-вода за наявності натрію гідроксиду отримано N-(3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-)аміноетанову кислоту (3) (схема 1). У ПМР-спектрі амінокислоти 3 фіксується синглет при 10,65 м.ч. та триплет при 7,25 м.ч., зумовлені резонансним поглинанням протонів, зв'язаних з атомами нітрогену в положеннях 1 і 8 молекули відповідно. Метиленові протони залишку гліцину резонують у вигляді дублету при 3,98 м.ч., а метиленові протони замісника в положенні 7 утворюють 2 триплети при 4,19 м.ч. (2H-N₇CH₂) та 3,61 м.ч. (2H-OCH₂). Протони метильних груп резонують у сильнішому полі у вигляді двох дуже близько розташованих інтенсивних синглетів при 3,23 м.ч. та 3,21 м.ч.

Отримана кислота, на наш погляд, є досить перспективним синтоном для подальшої модифікації молекули ксантину шляхом отримання різноманітних функціональних похідних карбоксигрупи.

Для отримання водорозчинних похідних амінокислоти 3 реакцією останньої з органічними амінамі-фармакофорами синтезовано ряд солей (4–13) – зручних об'єктів для фармакологічних досліджень. Реакції проводили при підігріванні кислотного та основного компонентів в еквімолярній кількості до їх розчинення в середовищі пропанол-вода. Слід зазначити, що збільшення кількості води призводить до зменшення виходу цільових продуктів і потребує випаровування розчинів у вакуумі, що ускладнює процес їх виділення. ІЧ- та ПМР-спектри синтезованих сполук (табл. 2, 3) однозначно підтверджують їх будову. Так, наприклад у ПМР-спектрі піперидинію 3-метил-7-β-метоксиетилксантиніл-8-аміноацетату (8) (табл. 3) фіксується поширений синглет при 10,91 м.ч., зумовлений резонансом амідного протону в положенні 1, форма якого визначається процесами обміну з амонійними протонами піперидинового залишку. Протон NH-групи залишку гліцину в положенні 8 фіксується у вигляді триплету у сильнішому полі при 6,69 м.ч., а протони метиленової групи – у вигляді дублету при 3,66 м.ч. Метиленові протони катіону піперидинію утворюють 3 групи сигналів при 2,93 м.ч. (т, 4H) – N(CH₂)₂; 1,65 м.ч. (м, 4H) та 1,54 (м, 2H), метиленові протони метоксиетильного залишку в положенні 7 фіксуються у вигляді триплетів при 4,16 м.ч. (2H, N₇CH₂) та 3,61 м.ч. (2H, CH₂O). Метильні протони, зв'язані з атомами кисню та нітрогену утворюють два синглети відповідної інтенсивності при 3,27 м.ч. та 3,26 м.ч. ПМР-спектри інших солей відповідають їх будові. Слід зазначити, що смуги валентних коливань NH₃⁺ груп (солі 4–6) перекриваються в ІЧ-спектрах смугами поглинання

Схема 1



аліфатичних СН-зв'язків в області $\sim 3000 \text{ см}^{-1}$. Смуги вбирання NH_2^+ -зв'язків у солях зі вторинними амінами (7–13) реєструють в інтервалі $2560\text{--}2420 \text{ см}^{-1}$ у вигляді широкої полоси середньої інтенсивності.

Отримані солі (4–13) – білі кристалічні сполуки, що добре розчинні у воді, нерозчинні в діетиловому етері, ацетоні.

Фармакологічні дослідження показали, що LD_{50} солей 4–13 лежить у межах $615\text{--}2360 \text{ мг/кг}$, тобто вони є практично нетоксичними речовинами. Майже всі вивчені сполуки за винятком N-етилпіперазинової солі (11) мають діуретичний ефект у межах $9,6\text{--}159\%$, причому 2-гідроксипропіламонію(6)-, морфолінію(9)-, N-метилпіперазинію(10)-, діетиламонію(12)-, дигідроксіетиламонію(13) ксантиніл-8-аміноетаноати перевищують активність еталону порівняння гіпотіазиду, що збільшує діурез на $68,3\%$.

Анальгетичну дію синтезованих солей порівнювали з анальгіном. Отримані результати свідчать, що солі 5, 7, 9 та 11 не виявляють знеболюючої дії. Інші сполуки

зменшують кількість ацетатних корців на $12,9\text{--}38,7\%$. Тільки одна сполука, а саме діетиламонію N-(3-метил-7- β -метоксиетилксантиніл-8)-аміноетаноат(12) ($38,7\%$) виявилась активнішою за анальгін, знеболююча дія якого складає $31,6\%$.

Отже, подальші дослідження з пошуку нетоксичних діуретиків та анальгетиків у даному ряді похідних ксантину є перспективним напрямком створення оригінальних лікарських засобів зазначеної дії.

Висновки

Розроблено простий лабораторний метод отримання N-(3-метил-7- β -метоксиетилксантиніл-8)-аміноетаної кислоти та її водорозчинних солей, будову яких доведено даними ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

Вивчено гостру токсичність, діуретичну та знеболюючу дію синтезованих речовин, у результаті встановлено, що отримані сполуки є практично нетоксичними, а деякі з них за діуретичною та анальгетичною дією перевершують гіпотіазид та анальгін – еталони порівняння.

Список літератури

1. *Машковський М.Д.* Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2005. – 1200 с.
2. Пошук потенціальних біологічно активних сполук серед похідних 3-метил-7-(β -гідрокси- γ -феноксипропіл-8-меркаптоксантину) / М.І. Романенко, Б.О. Прийменко, О.С. Шкода [та ін.] // Запороз. мед. журн. – 2003. – №4 (19). – С. 98–100.
3. Пат. 25470 Україна, МПК C07D 473/00. 3-метил-7-(β -гідрокси- γ -ізопропокси)пропіл-8-N- β -фенілетил-аміноксантин, який виявляє діуретичну дію / М.І. Романенко, І.Ф. Беленічев, Р.В. Жмурін, І.М. Романенко. – № u 2007 03558 ; заявл. 02.04.07; опубл. 10.08.07, Бюл. №12.
4. Пат. 27723 Україна, МПК C07D 473/00. 7- β -Гідрокси- γ -(2',4'-дихлорофеноксипропіл-8-N-(N'- β -гідроксіетил)піперазино-3-метилксантин, що виявляє гіпохолестеринемічну дію / М.І. Романенко, А.О. Остапенко, І.М. Блай [та ін.]. – № u 2007 07711; заявл. 09.07.07; опубл. 12.11.07, Бюл. №18.
5. Синтез та біологічні властивості 8-амінозаміщених 7- β -гідрокси- γ -(3'-метилфеноксипропіл-3-метилксантину) / О. С. Шкода, М. І. Романенко, І. Б. Самура [та ін.] // Вісник фармації. – 2007. – №1 (49). – С. 3–8.
6. Получение 3-метил-8-бромксантина и его алкилирование / Б.А. Прийменко, Н.И. Романенко, С.Н. Гармаш [и др.] // Укр. хим. журн. – 1985. – Т.51, №6. – С. 660–663.
7. *Гацура В.В.* Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 144 с.
8. *Берхин Е.Б.* Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим. фарм. журн. – 1977. – Т.11, №5. – С. 3–11.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.

Відомості про авторів:

Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Мартинюк О.О., лаборант НДР ЗДМУ.

Васюк С.О., д. фарм. н., професор, зав. каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Коржова А.С., к. фарм. н., доцент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Самура Б.А., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакотерапії НФаУ.

Таран А.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакотерапії НФаУ.

Надійшла в редакцію 29.08.2012 р.



В.О. Саліонов, В.П. Буряк, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш

Електронні спектри вбирання та дослідження тіон-тіольної таутомерії похідних 4-г-3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5(4Н)-тіону

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: тіон-тіольна таутомерія, УФ-спектри світлопоглинання, 1,2,4-тріазол, тіофен.

Ключевые слова: тион-тиольная таутомерия, УФ-спектры светопоглощения, 1,2,4-триазол, тиофен.

Key words: thion-thiol tautomerism, UV absorption spectra, 1,2,4-triazole, thiophene.

Вивчено УФ-спектри похідних 4-г-3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5(4Н)-тіону у розчинниках різної полярності. Ідентифіковано типи переходів електронів, що зумовлюють смуги вбирання спостережуваних спектрів вбирання. Вивчено тіон-тіольну рівновагу досліджуваних сполук.

Изучены УФ-спектры производных 4-г-3-(тиофен-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-5(4Н)-тиона в растворителях различной полярности. Идентифицированы типы переходов электронов, которые обуславливают полосы поглощения наблюдаемых спектров поглощения. Изучено тион-тиольное равновесие исследуемых соединений.

The UV spectra of 4-г-3-(thiophene-2-yl)-1Н-1,2,4-triazole-5(4Н)-thione derivatives in solvents with different polarity were studied. The types of transitions of electrons, which cause the absorption bands observed absorption spectra were identified. Thione-thiol equilibrium of the investigated compounds were studied.

Впровадження в практику нових вітчизняних лікарських засобів, що могли б конкурувати з дорогими імпортованими препаратами, – одне з найважливіших соціальних та економічних завдань фармацевтичної галузі. Ключовим етапом створення оригінальних лікарських препаратів для боротьби з такими поширеними захворюваннями, як патології серцево-судинної системи, щитовидної залози, нервової системи, туберкульозу, запальні процеси тощо, є цілеспрямований синтез біологічно активних речовин з вираженим фармакологічним ефектом і низькою токсичністю [3].

Вивчення наукової літератури за останнє десятиріччя свідчить, що значні синтетичні можливості в напрямку створення нових ефективних лікарських субстанцій надають гетероциклічні сполуки, зокрема похідні 1,2,4-тріазолу, ядро якого є структурною основою багатьох синтетичних лікарських засобів [5,7,14,16,21].

Нині в медичну практику в Україні впроваджено наступні лікарські засоби, похідні 1,2,4-тріазолу: флуконазол, вариконазол, анастразол, тіотриазолін, альпразолам, тріазолам [6].

Мета роботи

Вивчити електронні спектри вбирання 3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіолу (1), 4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу (2), 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу (3) у розчинниках різної полярності з метою ідентифікації типів переходів електронів, що зумовлюють появу смуг вбирання та дослідження тіон-тіольної таутомерії похідних 4-г-3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5(4Н)-тіону.

Матеріали і методи дослідження

Ступінь чистоти досліджуваних сполук перевірено за допомогою методу тонкошарової хроматографії за методикою, рекомендованою фармакопеею України для виявлення домішок у лікарських засобах [10]. Вимірювання ступеня абсорбції досліджуваних сполук проводили за допомогою спектрофотометра SPECORD-200 у кварце-

вих кюветах з товщиною шару 10 мм в межах довжин хвиль від 200 до 400 нм при концентрації досліджуваних розчинів у всіх випадках 2,5 мг%.

Результати та їх обговорення

Згідно до даних проведеного експерименту, ультрафіолетові спектри всіх досліджених сполук у всіх використаних розчинниках характеризуються трьома смугами середньої інтенсивності з максимумами світлопоглинання в межах 202–223 нм, 246–257 нм та 289–308 нм.

Так, УФ-спектри сполуки 3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіолу у водних розчинах спостерігаються максимумами при 206 нм, ϵ_{\max} 1030; 251 нм, ϵ_{\max} 1800; 290 нм, ϵ_{\max} 1020; в 96% етанолі – 205 нм, ϵ_{\max} 1500; 253 нм, ϵ_{\max} 2210; 290 нм, ϵ_{\max} 730; в 0,1М НСІ – 209 нм, ϵ_{\max} 1250; 252 нм, ϵ_{\max} 1830; 292 нм, ϵ_{\max} 1300; в 0,5М НСІ – 211 нм, ϵ_{\max} 1080; 252 нм, ϵ_{\max} 1750; 290 нм, ϵ_{\max} 1200; в 1М НСІ – 213 нм, ϵ_{\max} 1040; 252 нм, ϵ_{\max} 1740; 290 нм, ϵ_{\max} 1220; в 0,1М H₂SO₄ – 206 нм, ϵ_{\max} 1100; 252 нм, ϵ_{\max} 1700; 290 нм, ϵ_{\max} 1170; в 0,5М H₂SO₄ – 206 нм, ϵ_{\max} 1190; 252 нм, ϵ_{\max} 1700; 291 нм, ϵ_{\max} 1170; в 1М H₂SO₄ – 206 нм, ϵ_{\max} 1240; 252 нм, ϵ_{\max} 1670; 289 нм, ϵ_{\max} 1200; в 0,1М NaOH – 204 нм, ϵ_{\max} 3300; 253 нм, ϵ_{\max} 1500; 303 нм, ϵ_{\max} 830; в 0,5М NaOH – 204 нм, ϵ_{\max} 3700; 252 нм, ϵ_{\max} 1500; 307 нм, ϵ_{\max} 940.

Для електронних спектрів субстанції 4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу властиві наступні характеристики: для водних розчинів – 207 нм, ϵ_{\max} 1200; 251 нм, ϵ_{\max} 2400; 298 нм, ϵ_{\max} 950; для 96% етанолу – 206 нм, ϵ_{\max} 990; 254 нм, ϵ_{\max} 2050; 299 нм, ϵ_{\max} 930; для 0,1М НСІ – 207 нм, ϵ_{\max} 1000; 251 нм, ϵ_{\max} 2400; 297 нм, ϵ_{\max} 990; для 0,5М НСІ – 211 нм, ϵ_{\max} 900; 251 нм, ϵ_{\max} 2400; 297 нм, ϵ_{\max} 990; для 1М НСІ – 213 нм, ϵ_{\max} 950; 251 нм, ϵ_{\max} 2450; 298 нм, ϵ_{\max} 990; для 0,1М H₂SO₄ – 206 нм, ϵ_{\max} 1600; 251 нм, ϵ_{\max} 2700; 297 нм, ϵ_{\max} 1200; для 0,5М H₂SO₄ – 203 нм, ϵ_{\max} 1100; 251 нм, ϵ_{\max} 2400; 297 нм, ϵ_{\max} 990; для 1М H₂SO₄ – 203 нм, ϵ_{\max} 1200; 251 нм, ϵ_{\max} 2400; 297 нм, ϵ_{\max}

950; для 0,1M NaOH – 206 нм, ϵ_{max} 3200; 246 нм, ϵ_{max} 1300; 297 нм, ϵ_{max} 1440; для 0,5M NaOH – 206 нм, ϵ_{max} 3300; 246 нм, ϵ_{max} 1600; 296 нм, ϵ_{max} 1080; для 1M NaOH – 204 нм, ϵ_{max} 4400; 246 нм, ϵ_{max} 2000; 296 нм, ϵ_{max} 1060.

Смуги поглинання 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу також мають три максимуми, зокрема: у водному розчині – 203 нм, ϵ_{max} 3100; 254 нм, ϵ_{max} 2060; 291 нм, ϵ_{max} 1530; у 96% етанолу – 204 нм, ϵ_{max} 20750; 257 нм, ϵ_{max} 14040; 308 нм, ϵ_{max} 8400; у 0,1M HCl – 202 нм, ϵ_{max} 1900; 254 нм, ϵ_{max} 1500; 291 нм, ϵ_{max} 1000; у 0,5M HCl – 206 нм, ϵ_{max} 1800; 255 нм, ϵ_{max} 1500; 291 нм, ϵ_{max} 1040; у 1M HCl – 209 нм, ϵ_{max} 1530; 254 нм, ϵ_{max} 1470; 291 нм, ϵ_{max} 1000; у 0,1M H₂SO₄ – 207 нм, ϵ_{max} 1970; 254 нм, ϵ_{max} 1500; 291 нм, ϵ_{max} 1000; у 0,5M H₂SO₄ – 204 нм, ϵ_{max} 2000; 254 нм, ϵ_{max} 1500; 292 нм, ϵ_{max} 1060; у 1M H₂SO₄ – 203 нм, ϵ_{max} 2000; 254 нм, ϵ_{max} 1480; 291 нм, ϵ_{max} 1040; у 0,1M NaOH – 218 нм, ϵ_{max} 14100; 253 нм, ϵ_{max} 9400; 303 нм, ϵ_{max} 8900; у 0,5M NaOH – 220 нм, ϵ_{max} 11600; 253 нм, ϵ_{max} 1040; 307 нм, ϵ_{max} 1040; у 1M NaOH – 223 нм, ϵ_{max} 15600; 253 нм, ϵ_{max} 5200; 308 нм, ϵ_{max} 5200.

Для пояснення типів переходів електронів, що зумовлюють появу визначених смуг, безумовно, необхідно розглянути схеми розподілу електронної густини досліджуваних сполук (рис. 1) та виявити фрагменти молекул (модельних речовин) від переходу електронів у яких окремо і загалом у досліджуваних молекулах залежить наявність спостережуваних смуг вбирання.

В аспекті будови досліджуваних сполук у якості модельних речовин можуть бути розглянуті 1,2,4-тріазол, тіофен, бензол і деякі їх заміщенні похідні.

Згідно до даних наукової літератури, 1,2,4-тріазол у водних розчинах проявляє одну смугу середньої інтенсивності з максимумом при 187 нм (ϵ_{max} 3300), і це свідчить, що моноциклічні п'ятичленні молекули, які вміщують три гетероатоми азоту, проявляють смугу помірної інтенсивності біля короткохвильової частини ультрафіолетового спектра [17].

Характерною особливістю спектрів вбирання 1,2,4-тріазолу та інших ароматичних п'ятичленних гетероциклів є відсутність смуг, зумовлених переходом з орбіти неподілених електронів гетероатомів на π -орбіту кільця. У 1,2,4-тріазолі орбіта неподілених електронів гетероатомів має значний S-характер порівняно з

аналогічною орбітою в шестичленних циклах у зв'язку з меншими валентними кутами у перших. Нижча вакантна π -орбіта 1,2,4-тріазолу не має у загальному випадку вузлової площини, що переходить крізь гетероатоми, і тому $p \rightarrow \pi^*$ -смуги 1,2,4-тріазолу повинні бути відносно сильними. Слід зауважити, що переходи типу $p \rightarrow \pi^*$ включають приєднання електрону до π -системи, що знаходяться у збудженому стані, і слід покласти на те, що у п'ятичленних ароматичних гетероциклах, які вміщують у середньому 1, 2 π -електрону на один атом кільця, зазначені переходи характеризуються високою енергією [19].

Тіофен є моноциклічною гетероароматичною сполукою, що вміщує один гетероатом у п'ятичленному кільці, а його УФ-спектр характеризується смугою помірної інтенсивності у ближньому ультрафіолеті при 231 нм (ϵ_{max} 7100, розчинник – циклогексан). Схожість між спектрами вбирання циклопентану та тіофену дозволяє зробити висновок, що у тіофені немає гомоциклічного з'єднання [12]. При цьому гіперкон'югація через метиленову групу призводить до появи квазіциклічного хромофору. Енергетичні рівні тіофену знаходяться далі один від одного, ніж рівні лінійної молекули (циклопентандієну), і тому енергія переходу електронів між рівнями у тіофені більше. Водночас, низькоенергетичний перехід електронів у тіофені заборонений. Частина молекул 1, 2 та 3 можна розглядати з боку приєднання тіофену до молекул 1,2,4-тріазолу в положенні 3 (рис. 1).

Відомо, що у п'ятичленних гетероциклічних сполуках з одним гетероатомом ароматичні властивості збільшуються у наступному порядку: фуран, пірол, тіофен [20], і тому смуга з максимумами в межах 202–223 нм схожа з 1L_a смугою бензолу, що зумовлюється $p \rightarrow \pi^*$ -переходами електронів при їх локальному збудженні. В УФ-спектрі 2 метилпохідного 1,2,4-тріазолу спостерігається лише незначне батохромне зміщення (λ_{max} 234 нм).

Спектрам бензолу присвячено значну кількість як теоретичних, так і експериментальних наукових праць [22]. Теоретичний розгляд властивостей π -електронної системи бензолу передбачає появу в ультрафіолетовому регіоні спектра трьох смуг вбирання, що за класифікацією Klevens, Plat [15] позначаються

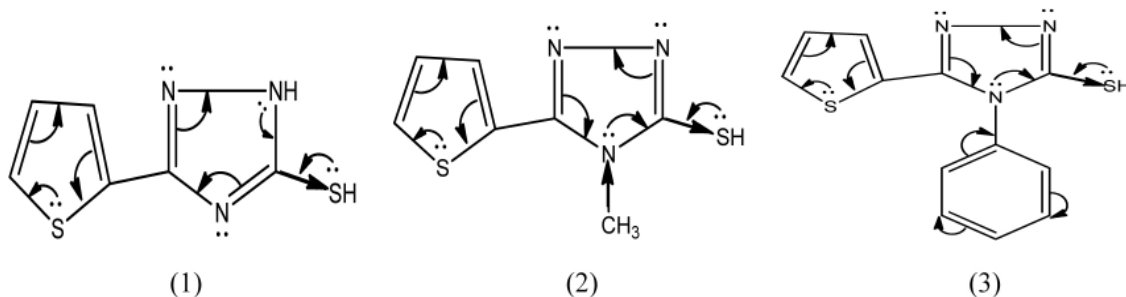


Рис. 1. Схеми розподілу електронної густини в молекулах: 3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіолу (1), 4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу (2), 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу (3).

відповідно як 1B_u , 1L_a , 1L_b -смуги. Дві з них характеризуються високою інтенсивністю: перша – в області 180 нм з $\epsilon \approx 25000$, а друга – в області 193–204 нм з $\epsilon \approx 8000$. Інтенсивність третьої смуги в межах 230–270 нм значно менша, для її найбільш інтенсивного максимуму ϵ складає ~ 230 . Перехід, що зумовлює смугу при 180 нм, явно належить до дозволених переходів; смуга при 200 нм з'являється в результаті забороненого переходу, а її порівнянню високу інтенсивність ($\epsilon 7500$) можна пояснити «запозиченням» інтенсивності у найближчого дозволених переходу. Смуга в області 250 нм також є смугою забороненого переходу: вона має низьку інтенсивність ($\epsilon 200$), оскільки знаходиться занадто далеко від дозволених переходу і не може «запозичити» інтенсивність. Тонка структура смуг бензолу в межах 230–270 нм і значної кількості його похідних пов'язане з впливом коливань цих молекул на їх $p \rightarrow \pi^*$ -переходи. При введенні до бензольного ядра аміногрупи ($-\text{NH}_2$), що містить неспарені електрони, спостерігається помітний батохромний зсув смуг вбирання з одночасним спрощенням її тонкої структури. В УФ-спектрі водних розчинів амінобензолу(аніліну), згідно до даних Д.Р. Дайера [4], спостерігають лише дві смуги з максимумами відповідно при 230 нм ($\epsilon 8600$) та 280 нм ($\epsilon 1430$).

Смуги, характерні для тіонової групи, знаходяться в інтервалі 230–260 нм ($\pi \rightarrow \pi^*$ -перехід електронів) і в інтервалі 300–330 нм ($p \rightarrow \pi^*$ -перехід електронів). Слід зазначити, що спектри вбирання простих тіонів вивчено недостатньо через їх нестабільність, адже вони легко ізомеризуються до ентіолів [11].

На підставі хімічної структури досліджуваних сполук можна зробити висновок, що смуги спостережуваних електронних спектрів зумовлені будовою речовин і поведінкою їх УФ-спектрів у розчинниках різної полярності [8].

Перша смуга вбирання для всіх досліджуваних сполук знаходиться в межах від 202 до 223 нм. Сполуки 1, 2, 3 у всіх випадках у своїй структурі мають 1,2,4-тріазол, і тому появу першої смуги можна пояснити $p \rightarrow \pi^*$ -переходами електронів даного гетероциклу до π -системи тріазолового циклу у збудженому стані. Сам факт зумовленості даної смуги $p \rightarrow \pi^*$ -переходами електронів підтверджується також гіпсохромним зсувом цієї смуги при збільшенні полярності використаних розчинників. Треба зауважити, що в регіоні довжин хвиль першої смуги для 1,2,4-тріазолу та тіофену спостерігається $\pi \rightarrow \pi^*$ -перехід електронів, і тому абсорбція для УФ-спектрів вбирання досліджуваних сполук у межах 202–223 нм може бути пояснена як результат взаємного накладання $p \rightarrow \pi^*$ - та $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходів.

Середньохвильова смуга помірної інтенсивності (246–257 нм) для 1,2,4-тріазолу та тіофену схожа з 1L_b -смугою бензолу і часто має тонку структуру, аналогічну 1L_b -смузі бензолу.

Третя смуга вбирання всіх досліджуваних сполук знаходиться в межах 289–308 нм і незначно змінює своє

положення та інтенсивність залежно від полярності використаних розчинників. Тому з впевненістю можемо зробити висновок, що вона зумовлена $p \rightarrow \pi$ -супряженням у молекулах досліджуваних сполук загалом [9].

Як видно з *рис. 2*, молекули досліджуваних сполук можуть існувати в тіон-тіольних таутомерних формах, наявність яких значно залежить від використаного розчинника [1], оскільки вони зумовлені прототропними бінарними рівновагами, тобто рівновагами між двома формами, що відрізняються положенням протону.

Через значну рухливість тіон-тіольної рівноваги та високу швидкість взаємоперетворень зазначених прототропних таутомерних форм останні рідко вдається виділити у чистому вигляді та розрахувати їх кількісне співвідношення [13]. Це також зумовлено тим, що прості тіони дуже нестійкі. Тому з'ясування зміщення тіон-тіольної рівноваги проведено на підставі залежності положення та інтенсивності спостережуваних смуг вбирання від полярності та pH використаних розчинників.

Отримані дані свідчать, що всі досліджувані сполуки в нейтральних розчинниках (вода, 96% етанол) існують переважно у тіонній формі, і тому положення максимумів всіх трьох смуг вбирання коливаються в цьому випадку в межах 1–3 нм. Тільки у випадку сполуки 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4*n*-1,2,4-тріазол-3-тіолу спостерігається зміщення максимуму третьої смуги світлопоглинання в 96% етанолі порівняно з розчином у воді на 17 нм. Це можна пояснити сильним супряженням фенільної групи в положенні 4, що надає їй більш «ароматичний» характер і сприяє збільшенню стійкості тіонної форми у цьому випадку.

У лужних розчинниках тіон-тіольна рівновага зміщується в сторону «кислотної» тіольної форми з утворенням S-натрієвого похідного, що має спектр поглинання, типовий для S-алкільованих сполук [2].

На підставі даних відносно характеру УФ-спектрів досліджуваних сполук у кислому середовищі (0,1*M* HCl; 0,5*M* HCl; 1*M* HCl; 0,1*M* H₂SO₄; 0,5*M* H₂SO₄; 1*M* H₂SO₄) можна зробити висновок, що речовини 3-(тіофен-2-іл)-1*n*-1,2,4-тріазол-5-тіол (1), 4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4*n*-1,2,4-тріазол-3-тіол (2), 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4*n*-1,2,4-тріазол-3-тіол (3) у зазначених розчинниках є сумішшю тіонної та тіольної форм (*рис. 2*).

Для підтвердження існування тіонної та тіольної форм виконано квантовохімічні розрахунки для сполук 3-(тіофен-2-іл)-1*n*-1,2,4-тріазол-5-тіолу (1), 4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4*n*-1,2,4-тріазол-3-тіолу (2), 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4*n*-1,2,4-тріазол-3-тіолу (3) у програмі Chemoffice 12 (метод оптимізації MM2, розрахунок зарядів за методом Хлоккеля).

На підставі отриманих даних відносно характеру спостережуваних електронних спектрів (положення максимуму, їх інтенсивність і структура смуг світловбирання), даних розрахунку зарядів атомів можна передбачити, що тіонна та тіольна форми досліджуваних сполук мають наступний вигляд:

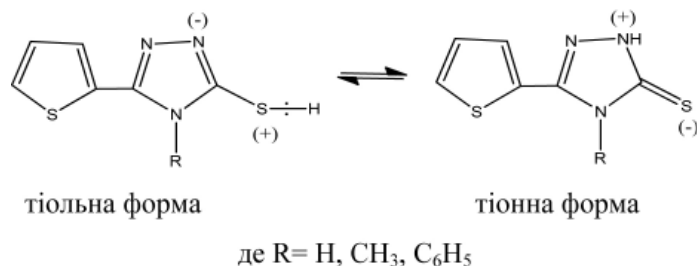


Рис. 2. Схема тіон-тіольної рівноваги похідних 4-R-3-(тіофен-2-іл)-1H-1,2,4-тріазол- 5(4H)-тіону.

Висновки

Вивчено електронні спектри вбирання 3-(тіофен-2-іл)-1H-1,2,4-тріазол-5-тіолу, 4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу та 4-феніл-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу у воді, 96% етанолі, розчинах хлоридної та сульфатної кислоти, а також у розчинах натрію гідроксиду.

Встановлено, що УФ-спектри досліджуваних речовин характеризуються трьома смугами вбирання в межах 202–223, 246–257 і 289–308 нм.

Першу смугу вбирання в межах 202–223 нм слід розглядати як результат накладання $p \rightarrow \pi^*$ - та $\pi \rightarrow \pi^*$ -

переходів 1,2,4-тріазолу та тіофену. Друга смуга зумовлена локальним збудженням π -електронів усіх хромофорів у молекулах досліджуваних сполук (1,2,4-тріазол, тіофен, бензол) і відповідає вимогам L_a -смуги. Третя смуга залежить від $p \rightarrow \pi$ -супряження всієї молекули кожної речовини.

Вивчено тіон-тіольну таутомерію всіх досліджуваних сполук. Встановлено, що у нейтральних розчинниках вони існують переважно в тіонній формі, у лужному середовищі рівновага зміщується в сторону тіольної форми з утворенням S-натрієвого похідного, а у кислому середовищі досліджувані речовини є сумішшю тіонної

Список літератури

1. Берштейн И.Я. Спектрометрический анализ в органической химии / И.Я. Берштейн, Ю.Л. Каминский. – Л.: Химия, 1986. – 200 с.
2. Большаков Т.Ф. Ультрафиолетовые спектры гетероорганических соединений / Большаков Т.Ф., Ватаго В.С., Агрест Ф.Б. – Л.: «Химия», 1969. – 504 с.
3. Вартамян Р.С. Синтез основных лекарственных средств / Вартамян Р.С. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 845 с.
4. Дайер Д.Р. Приложение абсорбционной спектроскопии органических соединений / Дайер Д.Р. – М.: Мир, 1970. – 164 с.
5. Кравець Д.С. Синтез і антиоксидантна активність 5-R-4-R,-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх S-заміщених / Кравець Д.С., Каплаушенко А.Г. // Фармацевтичний часопис. – 2007. – №4 (4). – С. 14–18.
6. Машковоєский М.Д. Лекарственные средства / Машковский М.Д. – М.: Новая волна; Издатель Умеренков, 2010. – 1216 с.
7. От субстанции к лекарству / Безуглый П.А., Болотов В.В., Грищенко И.С. и др.; под ред. В.П. Черных. – Х., 2005. – 848 с.
8. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии / Райхардт К.; пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 763 с.
9. Свердлова О.В. Электронные спектры в органической химии / Свердлова О.В. – Л.: Химия, 1985. – 248 с.
10. Тонкошарова хроматографія // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 41–44. – Доповнення 1. – 2004. – С. 1.
11. Штерн Э. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии / Э. Штерн, К. Тиммонс. – М.: Мир, 1974. – 295 с.
12. Atlas of spectral data and physical constants of organic compounds / [Ed. I. G. Grasselli]. – CRC Press. – UK, 1993. – 1061 p.
13. Delaere D. Thiol-Thione Tautomerism in Thioformic Acid: Importance of Specific Solvent Interactions / Delaere D., Raspoet G., Nguyen M.T. // F. Phys. Chem. – 1999. – Vol. 103. – P. 171–177.
14. Howell A. Effect of anastrozole on bone mineral density : 2-year results of «arimidex» (anastrozole), tamoxifen, alone or in combination (ATAC) trial / Howell A. // Breast Cancer Res. Treat. – 2003. – Vol. 82. – P. 129–134.
15. Klevens M.B. Spectral resemblances of cata-condensed hydrocarbons / M.B. Klevens, F.R. Plat. // F. Chem. Phys. – 1949. – Vol. 17, №5. – P. 470–481.
16. S. Mitwally M.F. Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to clomiphene citrate / S. Mitwally M. F., Casper R. F. // Fertil steril. – 2001. – Vol. 75. – P. 305–309.
17. Pretsh E. Tabellen zur Structurauf-klärung organischer Verbindungen mit spekroskopischen Methoden / Pretsh E. – Deutschland: Springer-Verlag, 1991. – 684 с.
18. 2-Pyridinethiol/2-Pyridinethione Tautomeric Equilibrium. A. Comparative Experimental and Computational Study / [Moran D., Sukcharoenphon K., Puchta R. et al.]. // F. Org. Chem. – 2002. – Vol. 67. – P. 9061–9069.
19. Robinson F.W. Practical handbook of spectroscopy / Robinson F.W. – UK: CRC Press. – 1991. – 764 p.
20. Silverstein R.M. Spectrometric identification of organic compounds / Silverstein R.M. – UK: Wiley, 1998. – 968 p.
21. Thurlimann B. Anastrole («Arimidex») versus tamoxifen as first-line therapy in post menopausal women with advanced breast cancer: Results of the double-blind cross-over SAKK trial 21/95 – a sub-study of the TARGET (Tamoxifen or «Arimidex») Randomized Group Efficacy and Tolerability) trial / Thurlimann B., Hess D., Koberle D. et al. // Breast Cancer Res. Treat. – 2004. – Vol. 85. – P. 247–254.
22. Workman F. Applied Spectroscopy / F. Workman, A. Springsteen – NY: Academic press, 1998. – 916 p.

Відомості про авторів:

Саліонов В.О., магістр каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.

Буряк В.П., д. фарм. н., професор каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.

Панасенко О.І., д. фарм. н., професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.

Книш Є.Г., д. фарм. н., професор, зав. каф. УЕФ ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 21.05.2012 р.



Т.І. Чабан, В.В. Огурцов, І.Г. Чабан, О.В. Кленіна, Х.Б. Гриневич

Синтез і вивчення антиоксидантної активності нових тiazоло[4,5-*b*]піридинів

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Ключові слова: тiazоло[4,5-*b*]піридини, гідразид (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти, ДФПГ, антиоксидантна активність.

Ключевые слова: тiazоло[4,5-*b*]піридини, гидразид (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-ил)-ацетатной кислоты, ДФПГ, антиоксидантная активность.

Key words: thiazolo[4,5-*b*]pyridines, hydrazide-(5,7-dimethyl-2-oxo-6-phenylazo-thiazolo[4,5-*b*]pyridine-3-yl) acetic acid, DPPH, antioxidant activity.

У результаті взаємодії етилового естеру 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти з гідразингідратом отримано перспективний у хімічному відношенні гідразид 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти. Його утилізовано в реакціях конденсації з ароматичними та гетероциклічними альдегідами з утворенням серії нових ариліденгідразидів 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти. Досліджено антиоксидантну активність отриманих сполук методом поглинання 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил-радикалу (ДФПГ).

В результате взаимодействия этилового эстера 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-ил)-ацетатной кислоты с гидразингідратом получен перспективный в химическом отношении гидразид 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-ил)-ацетатной кислоты. Его последующая утилизация в реакциях конденсации с ароматическими и гетероциклическими альдегидами привела к получению серии новых ариліденгідразидов 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-ил)-ацетатной кислоты. Исследована антиоксидантная активность полученных соединений методом поглощения 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил-радикала (ДФПГ).

5,7-dimethyl-2-oxo-6-phenylazo-thiazolo[4,5-*b*]pyridine-3-yl) acetic acid hydrazide as a chemically promising compound was obtained as a result of 5,7-dimethyl-2-oxo-6-phenylazo-thiazolo[4,5-*b*]pyridine-3-yl) acetic acid ethyl ester treatment with hydrazine hydrate. Its further utilization in the condensation reactions with aromatic and heterocyclic aldehydes led us to the series of novel arylidene derivatives of 5,7-dimethyl-2-oxo-6-phenylazo-thiazolo[4,5-*b*]pyridine-3-yl) acetic acid hydrazide preparation. The antioxidant activity of the synthesized compounds was evaluated by the method of scavenging effect on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals.

Похідні 4-тiazолідону є одними з пріоритетних об'єктів досліджень у сучасній медичній і фармацевтичній хімії, адже широкі можливості хімічної модифікації зазначених похідних дозволяють отримувати перспективні гетероциклічні системи для синтезу потенційних лікарських засобів [1–4]. Однак синтез і вивчення біологічної активності конденсованих похідних на їх основі залишається актуальною проблемою сьогодення.

Тiazоло[4,5-*b*]піридини є одним з найменш доступних і маловивчених представників цього класу органічних сполук. Зазначена біциклічна система має ізостеричну будову з відомими основами типу пурину та характеризується різними видами біологічної активності [5–13]. У цьому контексті актуальним є пошук органічних сполук, здатних проявляти високу біологічну активність, а також розробка на їх основі нових лікарських засобів.

Мета роботи

Синтез гідразиду (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти та його функціоналізація шляхом введення у реакцію конденсації з ароматичними та гетероциклічними альдегідами з утворенням серії ариліденгідразидів для фармакологічного скринінгу на антиоксидантну активність.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальна хімічна частина

Спектри ¹H ЯМР синтезованих сполук знімали на приладі «Varian Mercury VX-400», розчинник ДМСО-*d*₆, стандарт – тетраметилсилан. Дані елементного аналізу на вміст Нітрогену і Сульфуру відповідають розрахованим (±0,3%).

Етиловий естер 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-3*H*-тiazоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (1). У розчин, отриманий при нагріванні 0,09 моль калійної солі 5,7-диметил-6-фенілазо-3*H*-тiazоло[4,5-*b*]піридин-2-ону в 20 мл ДМФА, додають еквімолярну кількість етилового естеру монохлорацетатної кислоти. Суміш кип'ятять протягом 60 хв, спостерігають випадання значної кількості осаду. Потім гарячу суміш фільтрують, осад на фільтрі промивають гарячим ДМФА. До фільтрату, охолодженого до температури близько 50°C, при помішуванні додають 100 мл води і охолоджують до 12–15°C. Осад, що випав, відфільтровують, промивають водою та висушують. Очистку проводять шляхом перекристалізації з ацетатної кислоти. Вихід 66%. Т.топл. 103–104°C. Знайдено, %: N 14,85; S 8,52. C₁₈H₁₈N₄O₃S. Обчислено, %: N 15,12; S 8,66. Спектр ¹H ЯМР δ, м.ч.: 1,23 (т, 3H, J=7,00Гц, J=6,72Гц, OCH₂CH₃), 2,48 (с, 3H, CH₃), 2,64 (с, 3H, CH₃), 4,19–4,23 (м, 2H, OCH₂CH₃), 4,82(с, 2H, N-CH₂), 7,61–7,62 (м, 3H, Ph), 7,89–7,90 (м, 2H, Ph).

Гідразид (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (2). 0,02 моль етилового естеру 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-3-Н-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл ацетатної кислоти розчиняють у 8 мл етанолу. В отриманий розчин вносять 0,03 моль 50% розчину гідразингідрату. Суміш нагрівають на водяному огрівнику 12 год. Осад, що випав, відфільтровують, промивають водою і висушують спочатку на повітрі, а потім при 60°C. Очистку проводять шляхом перекристалізації з бутанолу. Вихід 65%. Т.топл. 210°C. Знайдено, %: N 23,40; S 9,06. $C_{16}H_{16}N_6O_2S$. Обчислено, %: N 23,58; S 9,00. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,47 (с, 3H, CH_3), 2,63 (с, 3H, CH_3), 4,33 (с, 2H, NH_2), 4,60 (с, 2H, CH_2), 7,61 (д, 3H, $J = 6,50$ Гц, Ph), 7,88 (д, 2H, $J = 6,50$ Гц, Ph), 9,42 (с, 1H, NH).

Загальна методика синтезу ариліденгідразидпохідних 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл-ацетатної кислоти (3–19). 0,005 моль гідразиду 5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл-ацетатної кислоти розчиняють у 30 мл етанолу. При перемішуванні до отриманого розчину вносять киплячий розчин, приготований з 0,005 моль альдегіду та 20 мл етанолу. Спостерігається випадання оранжевого осаду. Суміш нагрівають протягом 1 год. Осад, що випав, відфільтровують, промивають водою і висушують спочатку на повітрі, а потім при 100–110°C. Перекристалізують з етанолу. Отримані речовини – оранжеві та червоні кристалічні порошки, розчинні у спиртах та ацетатній кислоті, нерозчинні у воді.

4-Нітро-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (3). Вихід 95%. Т.топл. 252°C. Знайдено, %: N 20,20; S 6,46. $C_{23}H_{19}N_7O_4S$. Обчислено, %: N 20,03; S 6,55. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,63 (с, 3H, CH_3), 5,25 (с, 2H, CH_2), 7,61 (д, 3H, Ar), 7,88 (д, 2H, Ph), 8,00 (д, 2H, Ar), 8,20 (с, 1H, CH), 8,27 (д, 2H, Ar), 11,93 (с, 1H, NH).

3-Нітро-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (4). Вихід 90%. Т.топл. 260°C. Знайдено, %: N 20,20; S 6,46. $C_{23}H_{19}N_7O_4S$. Обчислено, %: N 20,03; S 6,55. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,57 (с, 3H, CH_3), 2,63 (с, 3H, CH_3), 5,24 (с, 2H, CH_2), 7,61 (д, 3H, Ph), 7,75 (т, 1H, Ar) 7,89 (д, 2H, Ph), 8,21 (с, 2H, Ar), 8,26 (д, 1H, Ar), 8,55 (с, 1H, CH), 12,02 (с, 1H, NH).

4-Бром-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (5). Вихід 92%. Т.топл. 275°C. Знайдено, %: N 15,95; S 6,06. $C_{23}H_{19}BrN_6O_2S$. Обчислено, %: N 16,06; S 6,13. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,57 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,20 (с, 2H, CH_2), 7,62 (д, 2H, Ar), 7,65 (д, 3H, Ph), 7,71 (д, 2H, Ar) 7,90(д, 2H, Ph), 8,07 (с, 1H, CH), 11,86 (с, 1H, NH).

4-Гідрокси-3-метокси-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-

іл)-ацетатної кислоти (6). Вихід 82%. Т.топл. 258°C. Знайдено, %: N 17,05; S 6,56. $C_{24}H_{22}N_6O_4S$. Обчислено, %: N 17,13; S 6,54. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 3,85 (с, 3H, OCH_3), 5,18 (с, 2H, CH_2), 6,84 (д, 1H, Ar), 7,12 (д, 1H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,92 (д, 3H, Ph), 7,96 (с, 1H, CH), 9,51 (с, 1H, OH), 11,65 (с, 1H, NH).

4-Фтор-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (7). Вихід 90%. Т.топл. 280°C. Знайдено, %: N 18,25; S 6,96. $C_{23}H_{19}FN_6O_4S$. Обчислено, %: N 18,17; S 6,93. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,19 (с, 2H, CH_2), 7,29 (т, 2H, Ar), 7,63 (д, 3H, Ph), 7,82 (т, 2H, Ar), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,09 (с, 1H, CH), 11,73 (с, 1H, NH).

5-Хлоро-2-гідрокси-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (8). Вихід 95%. Т.топл. 274°C. Знайдено, %: N 16,75; S 6,56. $C_{23}H_{19}ClN_6O_3S$. Обчислено, %: N 16,98; S 6,48. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,51 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,19 (с, 2H, CH_2), 6,94 (д, 1H, Ar), 7,30 (т, 1H, Ar), 7,63 (д, 3H, Ph), 7,79 (с, 1H, Ar), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,33 (с, 1H, CH), 11,80 (с, 1H, NH).

4-Диметиламіно-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (9). Вихід 80%. Т.топл. 240°C. Знайдено, %: N 20,72; S 6,50. $C_{25}H_{25}N_7O_2S$. Обчислено, %: N 20,11; S 6,58. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,51 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 2,99 (с, 6H, $N-CH_3$), 5,13 (с, 2H, CH_2), 6,75 (д, 2H, Ar), 7,54 (д, 2H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,90 (д, 2H, Ph), 7,94 (с, 1H, CH), 11,45 (с, 1H, NH).

3,4-Диметокси-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (10). Вихід 87%. Т.топл. 268°C. Знайдено, %: N 16,52; S 6,50. $C_{25}H_{24}N_6O_4S$. Обчислено, %: N 16,66; S 6,35. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 3,82 (д, 6H, OCH_3), 5,20 (с, 2H, CH_2), 7,02 (д, 1H, Ar), 7,22 (д, 1H, Ar), 7,40 (с, 1H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,00 (с, 1H, CH), 11,68 (с, 1H, NH).

4-Хлор-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (11). Вихід 77%. Т.топл. 280°C. Знайдено, %: N 17,70; S 6,51. $C_{23}H_{19}ClN_6O_2S$. Обчислено, %: N 17,55; S 6,69. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,19 (с, 2H, CH_2), 7,52 (д, 2H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,79 (д, 2H, Ar), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,01 (с, 1H, CH), 11,86 (с, 1H, NH).

3-Етокси-4-гідрокси-бензиліден-гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (12). Вихід 82%. Т.топл. 253°C. Знайдено, %: N 16,52; S 6,20. $C_{25}H_{24}N_6O_4S$. Обчислено, %: N 16,66; S 6,35. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 1,36 (с, 1H, OCH_2CH_3), 2,51 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 4,09 (с, 2H, OCH_2CH_3), 5,17 (с, 2H, CH_2), 6,85 (д, 1H, Ar), 7,10 (с,

1H, Ar), 7,34 (с, 1H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,92 (д, 2H, Ph), 7,94 (с, 1H, CH), 9,45 (с, 1H, OH), 11,66 (с, 1H, NH).

2-Карбокси-бензиліден-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (13). Вихід 90%. Т.топл. 240°C. Знайдено, %: N 17,30; S 6,45. $C_{24}H_{20}N_6O_4S$. Обчислено, %: N 17,20; S 6,56. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,20 (с, 2H, CH_2), 7,55 (к, 2H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,90 (д, 2H, Ph), 7,92 (с, 1H, Ar), 8,01 (с, 1H, CH), 8,84 (с, 1H, Ar), 11,91 (с, 1H, NH), 13,28 (с, 1H, COOH).

2-Хлор-бензиліден-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (14). Вихід 85%. Т.топл. 270°C. Знайдено, %: N 17,70; S 6,51. $C_{23}H_{19}ClN_6O_2S$. Обчислено, %: N 17,55; S 6,69. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,21 (с, 2H, CH_2), 7,40–7,49 (м, 2H, Ar), 7,54 (д, 1H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,01 (д, 1H, CH), 8,46 (с, 1H, Ar), 11,97 (с, 1H, NH).

5-(4-Нітро-феніл)-фуран-2-іл-метилен-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*] піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (15). Вихід 82%. Т.топл. 255°C. Знайдено, %: N 17,70; S 5,69. $C_{27}H_{21}N_7O_5S$. Обчислено, %: N 17,65; S 5,77. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,20 (с, 2H, CH_2), 7,14 (с, 1H, Фуран), 7,43 (с, 1H, Фуран), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,88 (д, 2H, Ph), 8,02 (д, 1H, CH), 8,04 (д, 2H, Ar), 8,28 (с, 2H, Ar), 11,83 (с, 1H, NH).

3-Фуран-2-іл-алілден-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (16). Вихід 77%. Т.топл. 265°C. Знайдено, %: N 17,70; S 5,69. $C_{27}H_{21}N_7O_5S$. Обчислено, %: N 17,65; S 5,77. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,63 (с, 3H, CH_3), 5,04 (с, 2H, CH_2), 6,60–6,74 (м, 3H, Фуран), 6,95–7,01 (м, 1H, CH), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,78 (с, 1H, CH), 7,84 (д, 1H, J=6,91 Гц, CH), 7,90 (д, 2H, Ph), 11,76 (с, 1H, NH).

5-(2-Хлор-5-трифлуорметил-4-феніл)-фуран-2-іл-метилен-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (17). Вихід 75%. Т.топл. 283°C. Знайдено, %: N 13,79; S 5,31. $C_{28}H_{20}ClF_3N_6O_3S$. Обчислено, %: N 13,71; S 5,23. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,63 (с, 3H, CH_3), 5,16 (с, 2H, CH_2), 7,15 (с, 1H, Фуран), 7,41 (с, 1H, Фуран), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,73 (с, 1H, Ar), 7,84 (д, 1H, Ar), 7,89 (д, 2H, Ph), 8,06 (с, 1H, CH), 8,17 (с, 1H, Ar), 11,74 (с, 1H, NH).

5-(2,3-Дихлоро-феніл)-фуран-2-іл-метилен-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (18). Вихід 80%. Т.топл. 276°C. Знайдено, %: N 13,99; S 5,51. $C_{27}H_{20}Cl_2N_6O_3S$. Обчислено, %: N 14,50; S 5,53. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,17 (с, 2H, CH_2), 7,07–7,15 (м, 1H, Фуран), 7,36 (д, 1H, Фуран), 7,50 (д, 2H, Ar), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,02 (с, 1H, CH), 11,85 (с, 1H, NH).

1-(2,5-Дихлоро-феніл)-2,5-диметил-1H-пірол-3-іл-метилен-гідрозид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (19). Вихід 79%. Т.топл. 255°C. Знайдено, %: N 16,79; S 5,22. $C_{29}H_{25}Cl_2N_7O_2S$. Обчислено, %: N 16,16; S 5,29. Спектр 1H ЯМР δ , м.ч.: 1,92 (с, 3H, $ArCH_3$), 2,04 (с, 3H, $ArCH_3$), 2,55 (с, 3H, CH_3), 2,64 (с, 3H, CH_3), 5,08 (с, 2H, CH_2), 6,30 (с, 1H, Пірол), 7,62 (д, 3H, Ph), 7,68 (д, 1H, Ar), 7,73 (с, 1H, Ar), 7,78 (д, 1H, Ar), 7,90 (д, 2H, Ph), 8,04 (с, 1H, CH), 11,32 (с, 1H, NH).

Експериментальна біологічна частина

Вивчення антиоксидантної активності сполук. Розчини сполук в етанолі (0,3 мл, 20 μ моль/л) додавали до спиртового розчину ДФПГ (2,7 мл, 150 μ моль/л). Суміш інтенсивно перемішували і залишали на 2 год. Після цього розчин вносили в кювету спектрофотометра і визначали його оптичну густину ($\lambda = 517$ нм). Радикал-поглинальну активність сполук обчислювали за формулою:

$$РПА = \frac{A_{ДФПГ} - A_s}{A_{ДФПГ}} \cdot 100\%$$

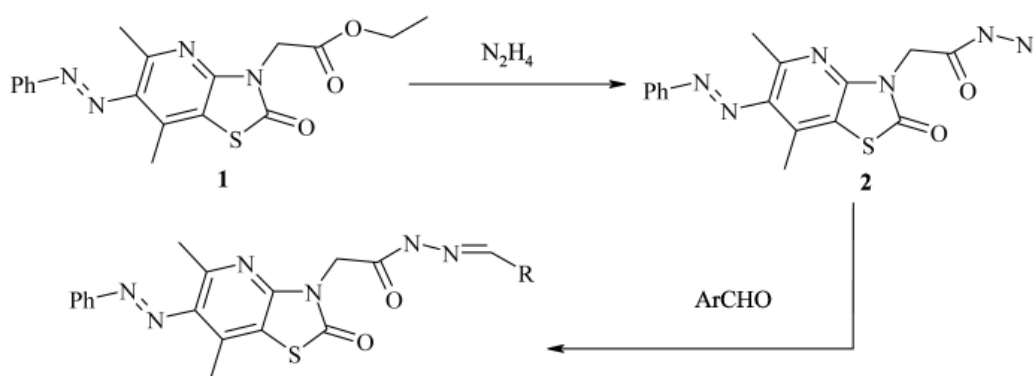
де $A_{ДФПГ}$ – оптична густина розчину вільного радикалу ДФПГ (135 μ моль/л), A_s – оптична густина розчину ДФПГ з тестованою речовиною. Як стандарт використовували аскорбінову кислоту (РПА=21,5%). Вимірювання проводили тричі з незалежними аліквотами. Відносні відхилення не перебільшували 7%.

Результати та їх обговорення

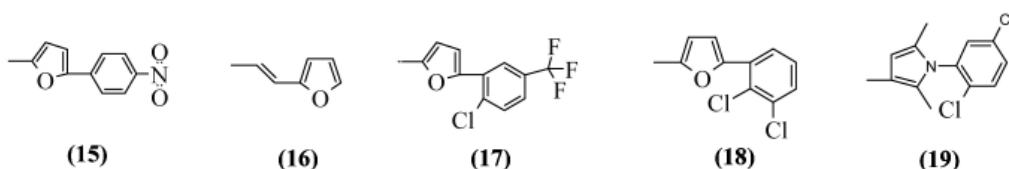
Вперше отриманий етиловий естер (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-3H-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл) ацетатної кислоти (**1**) [14], в хімічному аспекті становить інтерес як проміжний продукт для переходу до перспективного у синтетичному відношенні гідрозиду (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти (**2**). Для отримання зазначеної сполуки вивчали реакцію гідрозидолізу сполуки **1**. Здійснені експерименти показали, що найоптимальнішими умовами для отримання сполуки **2** є проведення реакції у середовищі 96% етанолу з використанням як гідрозидолізуючого агента 50% розчину гідрозидогідрату при тривалому кип'ятінні на водному огрівнику.

Для функціоналізації гідрозидної групи вивчали взаємодію сполуки **2** з ароматичними та гетероциклічними альдегідами. В ході дослідів встановили, що оптимальним середовищем для отримання відповідних ариліден-гідрозидпохідних є 96% етанол.

Для підтвердження структури та індивідуальності синтезованих речовин використано методи кількісного елементного аналізу та спектроскопії 1H ЯМР. Так, сигнали протонів метильних груп піридинового циклу спостерігають при 2,42–2,57 м.ч. і 2,61–2,64 м.ч. відповідно. Фенільний радикал у положенні 6 представлений двома дуплетами в ділянках 7,53–7,63 м.ч. та 7,75–7,92 м.ч. Сполука **2** характеризується наявністю гідрозидної групи, представленої двома синглетами при



R = 4-NO₂-C₆H₄ (3), 3-NO₂-C₆H₄ (4), 4-Br-C₆H₄ (5), 3-OMe-4-OH-C₆H₃ (6), 4-F-C₆H₄ (7), 2-OH-5-Cl-C₆H₃ (8), 4-(CH₃)₂N-C₆H₃ (9), 3,4-(OMe)₂-C₆H₃ (10), 4-Cl-C₆H₄ (11), 3-OEt-4-OH-C₆H₃ (12), 2-COOH-C₆H₄ (13), 2-Cl-C₆H₄ (14),



Таблиця 1

Антиоксидантна активність синтезованих сполук

Сполука або еталонний лікарський засіб	РПА, %	Сполука або еталонний лікарський засіб	РПА, %
Аскорбінова кислота	21,5	Сполука 10	25,9
Сполука 1	13,9	Сполука 11	5,0
Сполука 2	7,6	Сполука 12	17,0
Сполука 3	7,1	Сполука 13	11,0
Сполука 4	7,1	Сполука 14	7,0
Сполука 5	8,2	Сполука 15	7,9
Сполука 6	28,2	Сполука 16	6,6
Сполука 7	22,4	Сполука 17	9,9
Сполука 8	21,8	Сполука 18	7,9
Сполука 9	10,6	Сполука 19	7,9

4,33 м.ч.(NH₂) та 9,42 м.ч.(NH). Для сполук 3–19 відсутній сигнал синглету при 4,33 м.ч. (NH₂), що підтверджує отримання ариліденопохідних сполуки 2. Спектральні характеристики синтезованих сполук наведено в експериментальній частині.

Антиоксидантну активність сполук досліджували *in vitro*, визначаючи зменшення концентрації вільного радикалу [15,16]. Для цього використали відносно стабільний радикал – 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозилу (ДФПГ). Інтенсивно фіолетовий ДФПГ у розчині етанолу характеризується максимумом поглинання світла при 517 нм. За наявності антиоксидантів гаситься вільнорадикальний центр ДФПГ, внаслідок чого розчин поступово втрачає фіолетове забарвлення. Порівняння оптичної густини розчину, що містить досліджувану субстанцію та надлишок радикалу, з оптичною густиною розчину самого радикалу дає змогу визначати радикал-поглинальну активність (РПА) сполук (табл. 1).

Отже, результати первинного скринінгу засвідчу-

ють наявність серед нових похідних 3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-онів сполук з антиоксидантною активністю.

Висновки

Встановлено, що етиловий естер (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти в умовах реакції гідразинолізу утворює перспективний у хімічному відношенні гідразид-(5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти.

Взаємодія гідразиду (5,7-диметил-2-оксо-6-фенілазо-тіазоло[4,5-*b*]піридин-3-іл)-ацетатної кислоти з ароматичними і гетероциклічними альдегідами у середовищі 96% етанолу призводить до утворення неописаних у науковій літературі відповідних ариліденгідразидопохідних.

Вперше ідентифіковано антиоксидантний ефект похідних 5,7-диметил-3*H*-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону, що дає можливість встановити деякі закономірності «структура-активність» серед похідних тіазоло[4,5-*b*]піридину.

Список літератури

1. *Brown F.C.* 4-Thiazolidones / *Brown F.C.* // *Chem. Rev.* – 1961. – Vol. 61, №3. – P. 463–521.
2. *Barrett G.C.* The chemistry of 1,3-thiazolinone-hydroxy-1,3-thiazole systems / *Barrett G.C.* // *Tetrahedron.* – 1980. – Vol. 36. – P. 2023–2058.
3. *Lesyk R.B.* 4-Thiazolidones: Centenarian History, Current Status and Perspectives for Modern Organic and Medicinal Chemistry / *Lesyk R.B., B.S. Zimenkovsky* // *Curent Org. Chem.* – 2004. – №8. – P. 1547–1577.
4. *Комариця Й.Д.* Тiazолідин-2,4-діон: оптимізація синтезу і одно-реакторний спосіб одержання його 3-алкіл-5-ариліденпохідних / *Комариця Й.Д., Зіменковський Б.С., Чабан І.Г. та ін.* // *ЖОФХ.* – 2011. – Т. 9, Вип. 4 (36). – С. 17–19.
5. *Чабан Т.І.* Синтез похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3*H*-tiazоло[4,5-*b*]піридин-2-ону та вивчення їх антиексудативної активності / *Чабан Т.І., Огурцов В.В., Комариця Й.Д. та ін.* // *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація.* – 2011. – №1,2. – С. 208–214.
6. *Чабан Т.І.* Синтез та вивчення антимікробної активності деяких тiazоло[4,5-*b*]піридинів / *Чабан Т.І., Огурцов В.В., Чабан І.Г. та ін.* // *ЖОФХ.* – 2012. – Т. 9, Вип. 4 (36). – С. 17–19.
7. *Чабан І.Г.* Синтез властивості та антимікробна дія 6-арилазо-7-метил-5-оксі-2,3-дигідротiazоло[4,5-*b*]піридин-2-онів / *Чабан І.Г., Комариця Й.Д., Герман В.І.* // *Фармац. журн.* – 1992. – №4. – С. 12–16.
8. *Marzoog S.* Synthesis of some new thiazolo[3,2-*a*]pyridines and related heterocyclic systems / *Marzoog S., Al-Thebeiti.* // *J. Farmaco.* – 2000. – Vol. 55. – P. 109–118.
9. *Walczynski K.* Non-imidazole histamine H₃ ligands. Part III. New 4-propylpiperazines as Non-imidazole histamine H₃-antagonists / *Walczynski K., Zuiderveld P., Timmerman H.* // *European J. of Med. Chem.* – 2005. – Vol. 40. – P. 15–23.
10. *Kulkarni S.S.* Design and synthesis of novel heterobiaryl amides as metabotropic glutamate receptor subtype 5 antagonists / *Kulkarni S.S., Newman A.H.* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2007. – Vol. 17. – P. 2987–2991.
11. *Lin R.* Synthesis and evaluation of 2,7-diamino-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine analogues as anti-tumor epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors / *Lin R., Johnson S., Connolly P. [et al.]* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – Vol. 19. – P. 2333–2337.
12. *Komoriya S.* Design, synthesis, and biological activity of novel factor Xa inhibitors: improving metabolic stability by S1 and S4 ligand modification / *Komoriya S., Kobayash S., Osanai K. [et al.]* // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 14. – P. 1309–1330.
13. *Singh B.* Novel and potent adenosine 3',5'-cyclic phosphate phosphodiesterase III inhibitors: thiazolo[4,5-*b*][1,6]naphthyridin-2-ones / *Singh B., Bacon E., Leshner G. [et al.]* // *J. Med. Chem.* – 1995. – Vol. 38. – P. 2546–2550.
14. *Чабан Т.І.* Синтез та вивчення гепатопротекторної активності деяких тiazоло[4,5-*b*]піридинів / *Чабан Т.І., Огурцов В.В., Чабан І.Г. та ін.* // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* – 2012. – №1. – С. 43–48.
15. *Blois M.S.* Antioxidant determinations by the use of a stable free radical / *Blois M.S.* // *Nature.* – 1958. – Vol. 181. – P. 1199–1200.
16. *Molyneux P.* The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity / *Molyneux P.* // *J. Sci. Technol.* – 2004. – Vol. 26. – P. 211–219.

Відомості про авторів:

Чабан Т.І., аспірант каф. загальної біонеорганічної та фізикоїдної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького.
 Огурцов В.В., доцент, зав. каф. загальної біонеорганічної та фізикоїдної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького.
 Чабан І.Г., доцент каф. фармацевтичної хімії ФПДО ЛНМУ ім. Данила Галицького.
 Кленіна О.В., доцент каф. загальної біонеорганічної та фізикоїдної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького.
 Гриневич Х.Б., ст. лаборант каф. загальної біонеорганічної та фізикоїдної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Надійшла в редакцію 03.10.2012 р.



О.Ю. Черчесова, М.І. Романенко, О.О. Мартинюк, Д.Г. Іванченко, К.В. Александрова, А.С. Коржова

Синтез і фізико-хімічні властивості похідних 2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-f]ксантину

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: синтез, оксазоло[2,3-f]ксантини, ІЧ-спектроскопія, ПМР-спектроскопія, мас-спектрометрія.

Ключевые слова: синтез, оксазоло[2,3-f]ксантини, ИК-спектроскопия, ПМР-спектроскопия, масс-спектрометрия.

Key words: synthesis, oxazolo[2,3-f]xanthines, IR-spectroscopy, NMR-spectroscopy, mass-spectrometry.

Розроблено препаративні методи синтезу не описаних раніше похідних 2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-f]ксантину, вивчено їх реакції з нуклеофільними реагентами. Будову синтезованих сполук доведено методами ІЧ-спектроскопії, ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Разработаны препаративные методы синтеза не описанных ранее производных 2,3-дигидро-1,3-оксазоло[2,3-f]ксантинов и изучены их реакции с нуклеофильными реагентами. Структура синтезированных соединений подтверждена методами ИК-спектроскопии, ПМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

The preparative methods for previously unknown 2,3-dihydro-1,3-oxazolo[2,3-f]xanthines derivatives were developed. Reactions with nucleophilic reagents were studied. The structure of the synthesized compounds were confirmed by the IR-spectroscopy, NMR-spectroscopy and mass-spectrometry.

Нині встановлено, що похідні ксантину виявляють бронхолітичну [1], антипсихотичну [2], гіполіпідемічну [3], діуретичну [4] та інші види активності на фоні низької токсичності. Похідні ксантину, що містять у положенні 7 тітановий цикл, значно покращують реологічні властивості крові [5–6] і можуть бути використані для лікування інсультів різного походження та ішемічної хвороби серця. Окрім впливу на аденозинові та пуринаргічні рецептори [7], деяким похідним ксантину притаманне конкурентне інгібування дипептидилпептидази IV [8–9], що проявляється в гіпоглікемічній дії. Висока реакційна здатність 8-бромоксантинів дає змогу здійснювати синтез невідомих похідних ксантинів, а це створює значний резерв для пошуку нових лікарських засобів широкого спектра дії.

Мета роботи

Вивчення реакцій електрофільного заміщення на основі 7-β-гідроксипропільних похідних 3-метилксантину (1; 2), доказ їх будови та реакції отримання похідних з нуклеофільними реагентами.

Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТП (М). ІЧ-спектри синтезованих сполук записували на приладі фірми Bruker Alpha в області 4000–400 см⁻¹. ПМР-спектри записували на приладі Bruker SF-400 (розчинник – ДМСО-d₆, внутрішній стандарт – ТМС). Мас-спектри записували на приладі «Varian 1200L», іонізація – електронний удар (70eV) при прямому введенні зразка. Елементний аналіз виконано на приладі Elementar vario EL cube. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Дані з фізико-хімічних властивостей та елементного аналізу синтезованих 1,7,8-тризаміщених 3-метилксантину (3–19) наведено в таблиці 1.

Синтез 8-метил-2-n-хлорофеноксиметил-2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-f]ксантинів (3–6). Суміш 0,02 моль бромоспирту 1 або 2, 0,04 моль калій карбонату, 0,03 моль

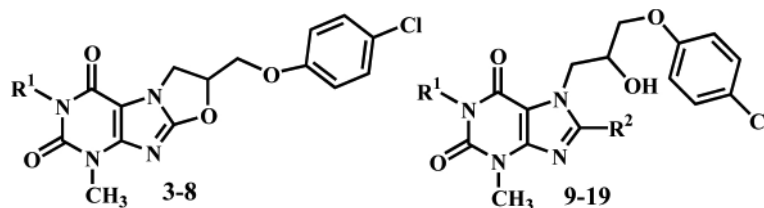
хлорацетону (3), хлорацетаміду (4) або хлороцтового естеру (5–6) та 100 мл ДМФА нагрівають на водяній бані протягом 5 год. Через 15 год фільтрують, фільтрат розводять водою, осад відфільтровують, промивають водою та перекристалізують з водного етанолу (3), водного діоксану (4–5) або водного пропанолу-2 (6).

Синтез оксазоло[2,3-f]ксантинів (7–8). Суміш 0,02 моль бромоспирту 1 або 2, 0,02 моль калій карбонату, 100 мл ДМФА кип'яють протягом 3 год, охолоджують, осад відфільтровують, промивають пропанолом-2, водою та перекристалізують з водного діоксану.

Синтез 8-амінозаміщених 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-3-метилксантиніл-1-ацетаміду (9–10); 8-амінозаміщених метилового естеру 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-3-метилксантиніл-1-оцтової кислоти (12–14); метилового естеру 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-3-метил-8-N-піперидиноксантиніл-1-оцтової кислоти (15); 8-амінозаміщених 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-3-метилксантиніл-1-оцтової кислоти (16–18). Розчин 0,005 моль 6-заміщеного оксазоліно[2,3-f]ксантину (4–5), 0,015 моль відповідного аміну у суміші 10 мл води та 20 мл діоксану кип'яють 1 год, охолоджують, розводять водою, осад відфільтровують, промивають водою та кристалізують з водного діоксану (9–10) або водного пропанолу-2 (11–15). Після виділення естерів (9, 13, 15) до фільтрату додають конц. НСІ до рН=2. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою. Очищують переосадженням хлоридною кислотою з водного розчину соди (16–18).

Синтез 8-гідразино-7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-3-метилксантиніл-1-ацетгідразиду (19). До гарячого розчину 0,005 моль метилового естеру оксазоліно[2,3-f]ксантиніл-6-оцтової кислоти (5) у суміші 10 мл води та 30 мл діоксану додають 3 мл гідразин гідрату та залишають за кімнатної температури. За добу осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, пропанолом-2 та ефіром.

Дані елементного аналізу та дослідження фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук (3–19)



Сполука	R ¹	R ²	T _{пл.} , °C	Емпірична формула	Вихід, %
3	CH ₂ -C(O)-CH ₃	–	154-156	C ₁₈ H ₁₇ ClN ₄ O ₅	83,9
4	CH ₂ C(O)-NH ₂	–	244-246	C ₁₇ H ₁₆ ClN ₄ O ₅	74,9
5	CH ₂ C(O)-OCH ₃	–	204-206	C ₁₈ H ₁₇ ClN ₄ O ₆	52,5
6	CH ₂ C(O)O-CH(CH ₃) ₂	–	172-174	C ₂₀ H ₂₁ ClN ₄ O ₅	48,6
7	H	–	252-254	C ₁₅ H ₁₃ ClN ₄ O ₄	58,8
8	CH ₃	–	193-195	C ₁₆ H ₁₅ ClN ₄ O ₄	66,3
9	CH ₂ C(O)-NH ₂	HNCH ₃	237-239	C ₁₈ H ₂₁ ClN ₆ O ₅	55,1
10	CH ₂ C(O)-NH ₂	HNC ₂ H ₅	241-243	C ₁₉ H ₂₃ ClN ₆ O ₅	75,5
11	CH ₂ C(O)-OCH ₃	HNCH ₂ -C ₆ H ₅	72-74	C ₂₅ H ₂₆ ClN ₅ O ₆	52,1
12	CH ₂ C(O)-OCH ₃	HN(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅	114-116	C ₂₆ H ₂₈ ClN ₅ O ₆	47,9
13	CH ₂ C(O)-OCH ₃	N(CH ₂) ₆ -цикло	156-158	C ₂₄ H ₃₀ ClN ₅ O ₆	40,5
14	CH ₂ C(O)-OCH ₃		136-137	C ₂₂ H ₂₆ ClN ₅ O ₇	48,0
15	CH ₂ C(O)-OCH ₃	N(CH ₂) ₅ -цикло	137-139	C ₂₃ H ₂₈ ClN ₅ O ₆	23,7
16	CH ₂ COOH	HNCH ₃	105-107	C ₁₈ H ₂₀ ClN ₅ O ₆	11,4
17	CH ₂ COOH	N(CH ₂) ₆ -цикло	177-179	C ₂₁ H ₂₄ ClN ₅ O ₆	56,7
18	CH ₂ COOH	N(CH ₂) ₅ -цикло	234-236	C ₂₂ H ₂₆ ClN ₅ O ₆	13,1
19	CH ₂ C(O)-NHNH ₂	NH-NH ₂	190-191	C ₁₇ H ₂₁ ClN ₈ O ₅	26,5

Результати та їх обговорення

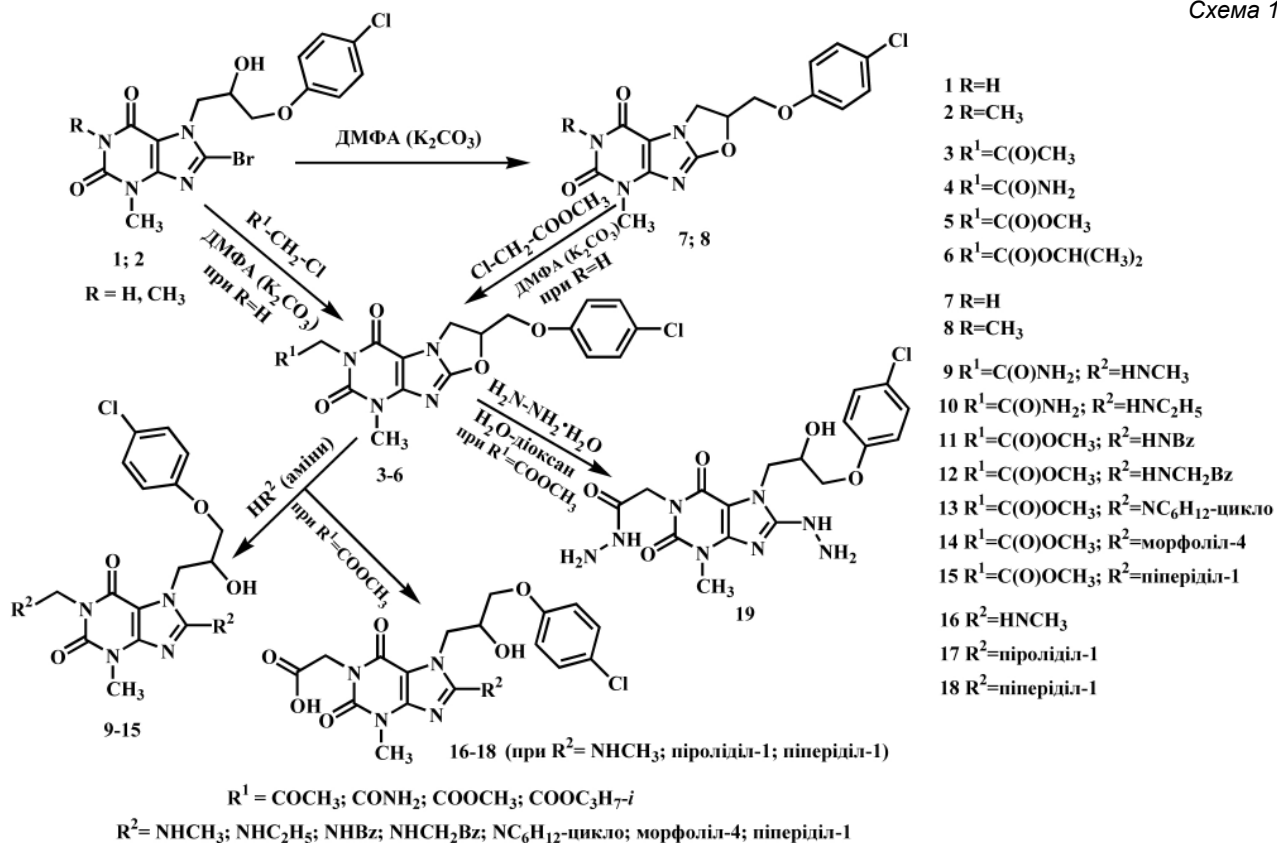
Встановлено, що нагрівання бромоксантинів **1** або **2** [10] з хлорацетоном, амідом або естерами хлороцтової кислоти в ДМФА за наявності K₂CO₃ призводить до утворення 6-заміщених 8-метил-2-*n*-хлорофеноксиметил-2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-*f*]ксантину (**3–6**) (схема 1).

Як показано на схемі 1, реакція бромоспирту **1** з хлоровміщуючими електрофілами завершується не тільки заміщенням атому гідрогену в положенні 1, але й внутрішньомолекулярною циклізацією бромоспирту **1** з утворенням 6-заміщених 8-метил-2-*n*-хлорофеноксиметил-2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-*f*]ксантину (**3–6**). Для підтвердження цього факту нагрівання бромоспиртів **1–2** в ДМФА за наявності еквімолярної кількості поташу синтезовано неописані раніше оксазоло[2,3-*f*]ксантини (**7–8**), що не мають замісників у положенні 6 молекули. Взаємодією оксазолксантину **7** з метилхлорацетатом у ДМФА в аналогічних умовах синтезовано метил[8-метил-2-(*n*-хлорофеноксиметил)-2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-*f*]ксантиніл-6]ацетат (**5**), що

за фізико-хімічними характеристиками виявився тотожним естеру **5**, отриманого в одну стадію з бромоспирту **1**. Дані ІЧ-спектрофотометрії та ПМР-спектроскопії, а також мас-спектрометрії однозначно підтверджують будову оксазоло[2,3-*f*]ксантинів **3–8**. В ІЧ-спектрах оксазоло[2,3-*f*]ксантинів **3–8** (табл. 2) відсутні смуги поглинання в області 3200–3300 см⁻¹ (νOH), характерні для спектрів вихідних β-гідроксипропілксантинів **1–2**. Також відсутні смуги поглинання NH-групи урацилового фрагмента молекули в межах 3150–3200 см⁻¹, що свідчить про наявність замісників у положенні 6 молекули. Слід також зазначити, що в спектрах кетону (**3**), аміду (**4**) й естерів (**5–6**) з'являються інтенсивні смуги поглинання введеної карбонільної групи у межах 1720–1744 см⁻¹.

У ПМР-спектрах оксазоло[2,3-*f*]ксантинів **3–8** (табл. 3) метиленові протони оксазолінового циклу та замісника в положенні 2 молекули утворюють мультиплет інтенсивністю у 4 протонні одиниці в інтервалі 4,73–4,13 м.ч., метинові протони оксазолінового ядра фіксуються у вигляді мультиплету у слабшому полі при

Схема 1



Таблиця 2

Максимуми поглинання в ІЧ-спектрах синтезованих сполук (1–19)

Сполука	ν, см ⁻¹					
	OH	NH	C=O	C=N	C=C	CH _{аром.}
1	3294	3154	1680	1667	1594	3031
2	3268	–	1693	1635	1594	3054
3	–	–	1739; 1703	1659	1601	3034
4	–	3416	1722; 1681	1649	1600	3065
5	–	–	1744; 1709	1656	1597	3080
6	–	–	1729; 1708	1652	1600	3098
7	–	3148	1718	1683	1594	3032
8	–	–	1696	1648	1602	3038
9	3310	3438; 3200	1677	1649	1609	3060
10	3324	3425; 3220	1678	1647	1606	3058
11	3340	3280	1748; 1696	1643; 1615	1568	3024
12	3361	–	1743; 1689	1648; 1613	1574	3020
13	3420	–	1753; 1696	1640	1612	3040
14	3425	–	1752; 1701	1644	1600	3062
15	3400	–	1746; 1696	1641	1610	3080
16	3360	–	1702; 1689	1649	1619	3020
17	3460	–	1720; 1693	1632	1604	3060
18	3480	–	1740; 1697	1616	1596	3080
19	3340	3280	1701	1658	1619	3096

Таблиця 3

ПМР-спектри 6-заміщених 8-метил-2-арилоксиметил-2,3-дигідрооксазол[2,3-f]ксантинів

Сполука	δ-шкала, м.ч.					
	CH _{аром.} (д, 2H)	N ⁶ CH ₂ (с, 2H)	N ⁴ CH ₂ +OCH ₂ (м, 4H)	OCH (м, 1H)	NCH ₃ (с, 3H)	Інші
3	7,33; 6,95	4,68	4,56-4,18	5,84	3,37	2,18 (с, 3H) CH ₃ C=O
4	7,32; 6,98	4,38	4,58-4,16	5,84	3,35	7,5 (с, 1H); 7,1 (с, 1H) NH ₂
5	7,32; 6,95	4,59	4,56-4,17	5,85	3,36	3,67 (с, 3H) OCH ₃
6	7,35; 6,95	4,55	4,73-4,17	5,84	3,37	4,94 (м, 1H) OCH; 1,22 (д, 6H) C(CH ₃) ₂
7	7,30; 6,95	–	4,55-4,10	5,77	3,28	11,03 (с, 1H) NH
8	7,36; 6,99	–	4,62-4,20	5,86	3,36; 3,21	–

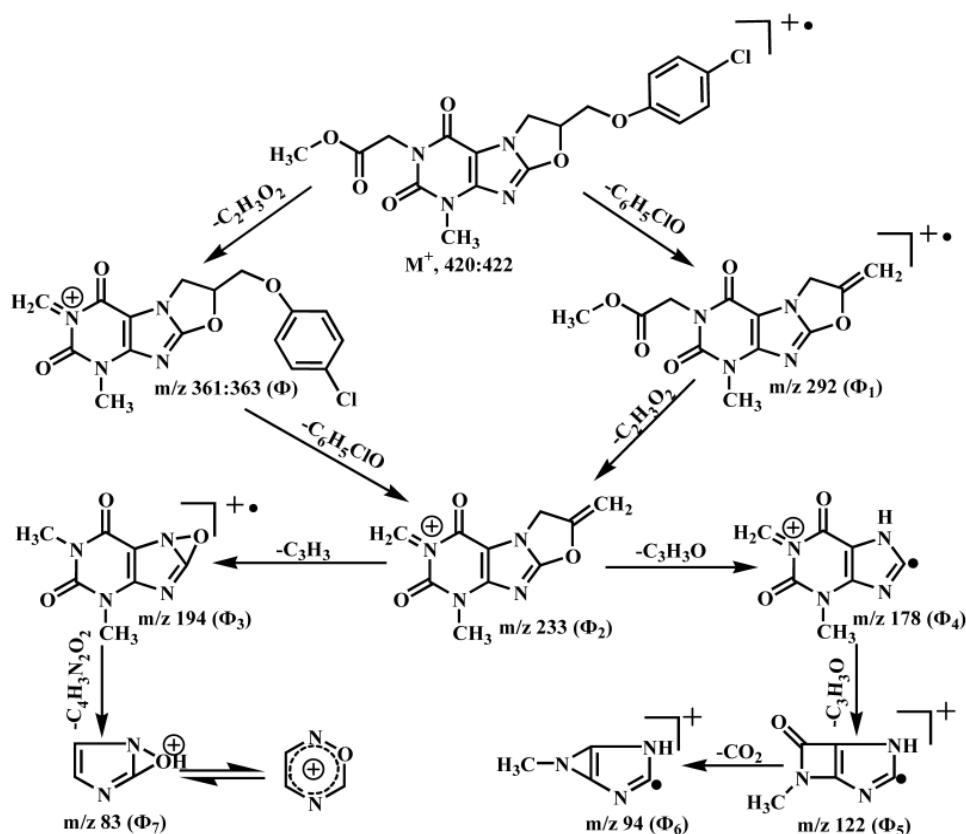
5,85–5,77 м.ч. У спектрах оксазоліно[2,3-f]ксантинів не реєструється дублет протонів гідроксигруп, що свідчить про циклічний характер продукту. Наявність замісників у положенні 6 молекули повністю підтверджують відповідні сигнали в їх ПМР-спектрах. Так, наприклад, у ПМР-спектрі 2-*n*-хлорофеноксиметил-8-метил-2,3-дигідро-1,3-оксазол[2,3-f]ксантиніл-6-ацетаміду (4) чітко фіксуються амідні протони у вигляді синглетів при 7,5 і 7,1 м.ч., а протони метилової групи – у положенні 6 при 4,38 м.ч. (с, 2H).

У мас-спектрах синтезованих оксазоліно[2,3-f]ксантинів зареєстровано піки молекулярних іонів, що відповідають розрахованим, а їх розпад відповідає будові синтезованих сполук. Так, у мас-спектрі метил[2-*n*-хлорофеноксиметил-2,3-дигідро-1,3-оксазол[2,3-f]ксантиніл-6]ацетату (8) реєструється пік молекулярного іону з *m/z* 420:422 (1:3), що відповідає розрахованій молекулярній масі. Розпад M⁺ під дією електронного удару (схема 2) відбувається за двома напрямками і пов'язаний з деградацією замісників у положеннях 2 та 6 (іони Ф і

Таблиця 4

ПМР-спектри 8-заміщених 7-β-гідрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропілксантинів

Сполука	δ-шкала, м.ч.				
	CH _{аром.} (д, 2H)	N ¹ CH ₂ (с, 2H)	N ⁷ CH ₂ CHCH ₂ (м, 5H)	N ³ CH ₃ (с, 3H)	Інші
9	7,3; 6,89	4,38	4,25-3,78 (м, 5H)	3,37	7,48 (с, 1H); 7,01 (с, 1H) NH ₂ ; 6,88 (кв, 1H) C ⁸ NH; 5,49 (д, 1H) OH; 2,88 (д, 3H) NCH ₃
10	7,29; 6,82	4,35	4,25-3,78 (м, 5H)	3,32 (м, 5H) +NCH ₂	7,48 (с, 1H); 7,02 (с, 1H) NH ₂ ; 6,83 (м, 1H) C ⁸ NH; 5,5 (д, 1H) OH; 1,12 (т, 3H) C-CH ₃
11	7,32 (м, 7H); 6,88 (д, 2H)	4,55(пош.с, 4H) + CH ₂ Ar	4,27-3,82 (м, 5H)	3,32	7,58 (т, 1H) C ⁸ NH; 5,52 (д, 1H) OH; 3,62 (с, 3H) OCH ₃
12	7,28 (м, 7H); 6,89 (д, 2H)	4,53	4,2-3,78 (м, 5H)	3,35	7,12 (т, 1H) C ⁸ NH; 5,5 (д, 1H) OH; 3,65 (с, 3H) OCH ₃ ; 3,49 (кв, 2H) CH ₂ N; 2,82 (т, 2H) CH ₂ Ar
13	7,30; 6,87	4,56	4,35-3,75 (м, 5H)	3,35	5,46 (д, 1H) OH; 3,65 (с, 3H) OCH ₃ ; 3,55 (т, 4H) N(CH ₂) ₂ ; 1,76 (м, 4H) (CH ₂) ₂ ; 1,55 (пош.с, 4H) (CH ₂) ₂
14	7,30; 6,90	4,59	4,45-3,88 (м, 5H)	3,38	5,5 (д, 1H) OH; 3,62 (пош.с, 7H) OCH ₃ +N(CH ₂) ₂ ; 3,3 (м, 2H) OCH ₂ ; 3,15 (м, 2H) OCH ₂
15	7,30; 6,90	4,58	4,45-3,8 (м, 5H)	3,38	5,47 (д, 1H) OH; 3,63 (с, 3H) OCH ₃ ; 3,31 (м, 2H); 3,1 (м, 2H) N(CH ₂) ₂ ; 1,57 (пош.с, 6H) (CH ₂) ₃
16	7,30; 6,90	4,43	4,23-3,8 (м, 5H)	3,38	12,78 (пош.с, 1H) COOH; 6,88 (кв, 1H) C ⁸ NH; 5,48 (д, 1H) OH; 2,85 (д, 3H) CH ₃ N
17	7,30; 6,88	4,44	4,4-3,7 (м, 5H)	3,32	12,8 (пош.с, 1H) COOH; 5,42 (д, 1H) OH; 3,55 (пош.с, 4H) N(CH ₂) ₂ ; 1,82 (пош.с, 4H) (CH ₂) ₂
18	7,30; 6,87	4,48	4,45-3,78 (м, 5H)	3,37	12,8 (пош.с, 1H) COOH; 5,44 (д, 1H) OH; 3,28 (м, 2H); 3,09 (м, 2H) N(CH ₂) ₂ ; 1,55 (пош.с, 6H) (CH ₂) ₃
19	7,30; 6,90	4,38	4,4-3,78 (м, 9H) +2NH ₂	3,37	9,1 (с, 1H) NH; 7,92 (с, 1H) NH; 5,45 (д, 1H) OH



Φ_1), що надалі, елімінуючи молекулу *n*-хлорофенолу та радикалу $C_2H_3O_2$, утворюють іон Φ_2 з m/z 223. Подальша фрагментація останнього пов'язана з розпадом оксазолінового кільця (іони Φ_3 та Φ_4) з наступною деградацією урацилової частини ксантинової молекули (іони з m/z 122, 94 та 83). Слід зазначити, що іон з m/z 83 (Φ_7) є максимальним у спектрі (99,9 %).

Надалі вивчено реакційну здатність оксазоліноксантинів по відношенню до N-вміщуючих нуклеofilів. Встановлено, що реакція амідів (4) та метилового естеру (5) оксазоліноксантиніл-6-оцтової кислоти з первинними та вторинними амінами або гідразиним перебігає неоднозначно. Як показано на схемі 1, нетривале нагрівання (1 год) амідів 4 з метил-, етиламінами в середовищі водного діоксану призводить до розкриття оксазолінового циклу з утворенням відповідних 8-амінозаміщених 7- β -гідрокси- γ -(*n*-хлорофенокси)пропіл-3-метилксантиніл-1-ацетамідів (9; 10). В аналогічних умовах реакція естеру 5 з бензиламіном, β -фенетиламіном, гексаметиленіміном і морфоліном завершується також утворенням відповідних 8-амінозаміщених метилового естеру ксантиніл-1-оцтової кислоти (11–14). При взаємодії естеру 5 з надлишком піперидину виділено та охарактеризовано два продукти: метиловий естер 7- β -гідрокси- γ -(*n*-хлорофенокси)пропіл-3-метил-8-N-піперидиноксантиніл-1-оцтової кислоти (15) та сама кислота (18), тобто водночас з розкриттям оксазолінового кільця під впливом сильної основи відбувається гідроліз естерої групи. При взаємодії естеру 5 з метиламіном чи піролідином реакція завершується винятково утворенням відповідних амінокислот 16, 17. Реакція метилового естеру 5 з надлишком гідразингідрату навіть при кімнатній температурі реалізується

синтезом 8-гідразино-7- β -гідрокси- γ -(*n*-хлорофенокси)пропіл-3-метилксантиніл-1-ацетогідразиду (19). Будову синтезованих 1,7,8-тризаміщених 3-метилксантину однозначно доведено спектральними методами дослідження (табл. 2, 4).

У ПМР-спектрі 8-метиламінозаміщеного амідів 9 (табл. 4), на відміну від вихідної сполуки 4, з'являється дублет протону гідроксильної групи при 5,49 м.ч., інтенсивний дублет при 2,88 м.ч. (3H), $-NHCH_3$ кватет при 6,88 м.ч. зумовлений резонансом протону NH-групи в положенні 8. Метиленові та метиновий протони N⁷-пропільного залишку реєструються у вигляді мультиплету в межах 4,25–3,78 м.ч., а протони метиленової групи в положенні 1 у спектрі ПМР утворюють інтенсивний синглет у 2 протонні одиниці при 4,38 м.ч. Ароматичні протони фіксуються у вигляді двох дублетів при 7,3 (2H) м.ч. та 6,89 (2H) м.ч.

Висновки

Вивчено реакції електрофільного заміщення на основі 7- β -гідрокси- γ -(*n*-хлорофенокси)пропіл-8-бромо-3-метилксантину, що дало можливість розробити препаративні методи синтезу неописаних раніше похідних 2,3-дигідро-1,3-оксазоло[2,3-*f*]ксантину – потенційних БАР.

Встановлено, що реакції 2,6,8-тризаміщених оксазоліно[2,3-*f*]ксантинів з нуклеофільними реагентами відбуваються з дециклізацією оксазолінового циклу, а будова продуктів реакції залежить від структури замісника в положенні 6 та основності реагентів.

Будову синтезованих сполук доведено методами ІЧ-спектрофотометрії, ПМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Список літератури

1. Pat. 2011/146031 A1 WO, Int.Cl. A61K 31/198 ; A61K 31/522 ; A61P 11/00. Pharmaceutical composition comprising N-acetylcysteine and a xanthine / Mahmut Bilggic. – № PCT/TR2011/000110 ; заявл. 16.05.11 ; опубл. 24.11.11. – 18 р.
2. Кіреєв І.В. Дослідження антипсихотичної та психостимулювальної активності 7,8-дизаміщених-3-метилксантину / І.В. Кіреєв, Б.А. Самура // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 2. – С. 81–85.
3. Вивчення гіполіпідемічної активності 7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метил-8-(4-метилпіперидин-1-іл)-ксантину при експериментальній гіперліпідемії у кролів / І.М. Білай, А.О. Остапенко, М.І. Романенко, М.П. Красько // Запорозж. мед. журн. – 2011. – Т. 13, №4. – С. 8–10.
4. Дослідження гострої токсичності і діуретичної активності амонійних солей 1,7-ди- та 1,3,7-триметилімідазо[1,2-*f*]ксантиніл-8-оцтової кислоти / В.І. Корнієнко, Б.А. Самура, М.І. Романенко, М.В. Глушенко // Вісник фармації. – 2009. – №1. – С. 67–70.
5. Поиск активных соединений среди производных 2-[3-метил-1-этил-7-(диоксоетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислоты, влияющих на систему гемостаза / Ф.Х. Камилов, Г.А. Тимирханова, А.И. Самородова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2011. – №9. – С. 254–256.
6. Синтез и гемореологическая активность солей титансо-держажих (ксантинил-8-тио)уксусных кислот / Ф.А. Халиуллин, А.А. Спасов, Л.В. Науменко [и др.] // Вопросы биол., мед. и фармац. химии. – 2010. – №7. – С. 63–66.
7. Pat. Appl. FR20060005189 France, МКИ А61К 31/522; А61Р 25/18. Utilisation de la 1,7-dimetyl-xanthine pour la fabrication d'un medicament psychoanaleptique non anxiogene destine au traitement d'un trouble neuropsychiatrique / J. Costentin, L. Mansuy, P. Sokoloff. – № 78470086; заявл. 12.06.06; опубл. 14.12.07. – 5 р.
8. Pat. 7,838,529 B2 USA, Int. Cl. C07D 473/06; А61К 31/522; А61Р 3/10; А61Р 3/04. Xanthine derivatives, their preparation and their use in pharmaceutical compositions / Frank Himmelsbach, Elke Langkopf, Matthias Eckhardt, Michael Mark, Roland Maier, Ralf Lotz. – № 12/355,011; заявл. 16.01.09; опубл. 23.10.10. – 30 р.
9. Pat. 7,696,212 B2 USA, Int. Cl. C07D 473/06; А61К 31/522; А61К 31/538; А61Р 3/10; А61Р 3/04. Xanthine derivatives, their preparation thereof and their use at pharmaceutical compositions / Frank Himmelsbach, Elke Langkopf, Matthias Eckhardt [et al.]. – № 12/331,720; заявл. 10.12.08; опубл. 13.04.10. – 72 р.
10. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 8-заміщених 7- β -гідрокси- γ -(4'-хлорофенокси)пропілксантинів / О.Ю. Черчесова, М.І. Романенко, І.М. Білай, А.О. Остапенко // Акт. питання фармац. і мед. науки та практики. – 2010. – Вип. XXIII, №4. – С. 72–75.

Відомості про авторів:

Черчесова О.Ю., аспірант каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Романенко М.І., д. фарм. н., професор каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Мартинюк О.О., лаборант каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Іванченко Д.Г., к. фарм. н., ст. викладач каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Александрова К.В., д. фарм. н., професор, зав. каф. біохімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Коржова А.С., к. фарм. н., доцент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 18.06.2012 р.

Алмохамад Жумаа Абдуллах, Б.С. Бурлака, С.А. Гладышева, Д.М. Романина

Изучение влияния температурного фактора на структурно-механические свойства суппозиториев с каптоприлом

Запорожский государственный медицинский университет

Ключові слова: каптоприл, температура процесу, тиксотропність, «механічна стабільність».

Ключевые слова: каптоприл, температура процесса, тиксотропность, «механическая стабильность».

Key words: captopril, process temperature, thixotropy, «mechanical stability»

Визначено, що процес виготовлення супозиторіїв з каптоприлом (приготування супозиторної основи, гомогенізації й розливу супозиторіїв у форми) доцільно проводити при температурі 40–45°C, що забезпечує рівномірний розподіл діючих і допоміжних речовин у даній лікарській формі при збереженні високого ступеня тиксотропності системи.

Установлено, що процес виготовлення суппозиториев с каптоприлом (приготовление суппозиторной основы, гомогенизации и разлива суппозиториев в формы) целесообразно проводить при температуре 40–45°C, обеспечивающей равномерное распределение действующих и вспомогательных веществ в данной лекарственной форме при сохранении высокой степени тиксотропности системы.

It was found that the appropriate conditions for preparation of suppositories with captopril (preparing suppository base, homogenizing and bottling in suppository form) were the temperature of 40–45°C. Above mentioned condition allow to achieve the even distribution of active substances and excipients in the medication, while maintaining a high degree of thixotropy.

Артериальная гипертензия (АГ) – одно из наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваний, являющееся причиной риска возникновения сердечных, мозговых и почечных осложнений, а также преждевременной смерти. Коррекция АГ – сложный процесс, предусматривающий раннее выявление патологии, ее адекватное лечение, проведение первичной и вторичной профилактики [1–3]. Для терапии эссенциальной и хронической гипертензии на протяжении продолжительного времени используют препараты-ингибиторы АПФ. Одним из наиболее известных лекарственных веществ этой фармакологической группы, рекомендованных Украинской ассоциацией кардиологов как средство лечения АГ и купирования гипертонических кризов, является каптоприл. Он также относится к одному из пяти ингибиторов АПФ, рекомендованных для продолжительного лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН), которая является наиболее распространенным осложнением сердечно-сосудистых заболеваний.

Наличие в химической структуре каптоприла сульфгидрильных групп дает возможность связывать свободные радикалы, увеличивать коронарное кровообращение, усиливать ренопротективный эффект и повышать чувствительность тканей к действию инсулина, а также предотвращать развитие толерантности к нитратам [4,5].

Традиционная пероральная таблетированная лекарственная форма, в которой каптоприл зарегистрирован в Украине, обладает рядом недостатков. Имеются клинические данные, что в этой лекарственной форме каптоприл может вызывать анорексию, диспепсию, стоматит, глоссит, язвенные поражения слизистой оболочки рта и желудка, ксеростомию, панкреатит. Кроме того, в связи с нарушением процесса всасывания вследствие застойных

явлений в кишечнике и печени, часто встречающегося у больных ХСН, при продолжительном приеме каптоприла могут иметь место нарушения его фармакодинамики и фармакокинетики. Они могут приводить к снижению эффективности препарата и вынуждать к повышению дозы, что повышает риски потенцирования уровня побочных реакций. Также известно, что пища уменьшает всасывание каптоприла на 35% [6–8].

Использование альтернативных путей всасывания каптоприла, в частности, ректального, позволит повысить его биодоступность и эффективность в сравнении с традиционными пероральными лекарственными формами, а также обеспечит практическую кардиологию доступным отечественным фармакотерапевтическим средством [9]. На кафедре технологии лекарств Запорожского государственного медицинского университета на основании физико-химических, биофармацевтических и микробиологических исследований предложена ректальная лекарственная форма каптоприла – суппозитории, содержащие 0,05 г лекарственного вещества на липофильной основе (масло какао) с добавлением 2% моноглицеридов дистиллированных [10–12].

Консистентные свойства суппозиторных масс оказывают непосредственное влияние на технологические параметры процесса изготовления ректальных лекарственных форм. При этом температурный фактор для суппозиториев на липофильных основах является определяющим для начала высвобождения, всасывания лекарственных веществ и степени их биологической доступности [13].

Цель работы

Изучение влияния температурного фактора на структурно-механические свойства ректальной лекарственной формы с каптоприлом.

Материалы и методы исследования

Изучение структурно-механических характеристик суппозиторной массы с каптоприлом на основе масла какао и 2% моноглицеридов дистиллированных проводили при помощи ротационного вискозиметра «Реотест-2» с цилиндрическим устройством при температуре тела человека 37°C и температуре проведения технологического процесса изготовления лекарственной формы [13].

Для установления консистентных свойств системы навески суппозиторных композиций помещали в измерительное устройство и термостатировали в течение 30 минут при соответствующих температурах. Затем цилиндр вращали в измерительном устройстве при 12 последовательно увеличивающихся скоростях сдвига, регистрируя показатели индикаторного прибора на каждой ступени. Разрушение структуры изучаемой системы проводили путем вращения цилиндра в измерительном устройстве на максимальной скорости в течение 10 минут, после чего, остановив вращение прибора на 10 минут, регистрировали показания индикатора на каждой из 12 скоростей сдвига при их уменьшении. На основании полученных результатов рассчитывали величины предельного напряжения сдвига и эффективной вязкости и строили реограммы течения систем [14].

О степени разрешения структуры исследуемых систем в процессе необратимых деформаций судили по величине «механической стабильности», которую вычисляли как отношение предела прочности структуры системы до разрушения к величине предела прочности структуры после него [15].

Результаты и их обсуждение

Результаты установления зависимости величины эффективной вязкости от скорости сдвига для изучаемой суппозиторной массы с каптоприлом, содержащей 98% масла какао и 2% моноглицеридов дистиллированных, при температуре 37°C представлены в *таблице 1*.

Приведенные данные свидетельствуют о наличии структуры в системе суппозиторной массы, поскольку ее предельное напряжение сдвига под воздействием возрастающих сил деформации увеличивается, а эффективная вязкость уменьшается.

Реограмма течения суппозиторной массы с каптоприлом при температуре 37°C представлена на *рис. 1*.

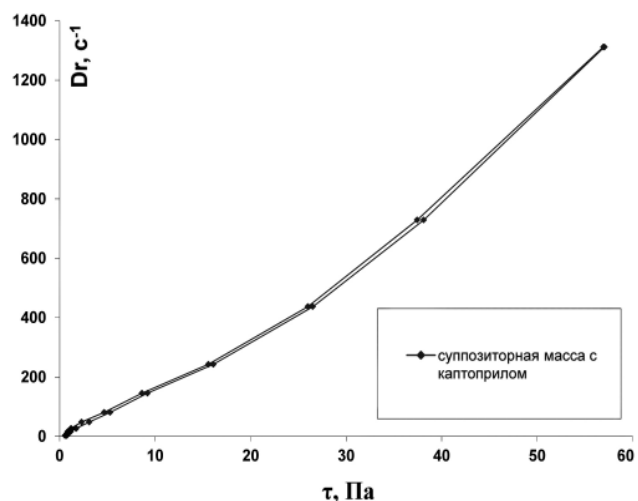


Рис. 1. Реограмма течения суппозиторной массы с каптоприлом на липофильной основе при температуре 37°C.

Анализ реограммы показывает, что имеет место образование восходящей и нисходящей ее ветвями так называемой «петли гистерезиса», что убедительно доказывает наличие в структуре суппозиторной массы восстанавливающихся после разрушения коагуляционных связей. Значение «механической стабильности» суппозиториев составляет 1,02, что также подтверждает высокие тиксотропные свойства композиции, которые обеспечили восстановление ее структуры после механических воздействий во время технологического процесса и равномерное распределения биологически активного вещества в лекарственной форме.

Таблица 1

Значения предельного напряжения сдвига и эффективной вязкости суппозиторной массы с каптоприлом на липофильной основе при температуре 37°C

Градиент сдвига, Дс ⁻¹	Напряжение сдвига (Па)	Вязкость (Па•с)	Градиент сдвига, Дс ⁻¹	Напряжение сдвига (Па)	Вязкость (Па•с)
3	0,75	0,249	1312	56,93	0,043
5,4	0,81	0,149	729	37,43	0,051
9	0,86	0,096	437,4	25,99	0,059
16,2	1,15	0,071	243	15,58	0,064
27	1,73	0,064	145,8	8,63	0,059
48,6	3,11	0,064	81	4,66	0,058
81	5,29	0,065	48,6	2,30	0,047
145,8	9,20	0,063	27	1,21	0,045
243	16,10	0,066	16,2	0,86	0,053
437,4	26,51	0,061	9	0,75	0,083
729	38,12	0,052	5,4	0,69	0,128
1312	57,04	0,043	3	0,58	0,192

Таблица 2

Значения предельного напряжения сдвига и эффективной вязкости суппозиторной массы с каптоприлом на липофильной основе при температуре 45°C

Градиент сдвига, Дс ⁻¹	Напряжение сдвига (Па)	Вязкость (Па•с)	Градиент сдвига, Дс ⁻¹	Напряжение сдвига (Па)	Вязкость (Па•с)
3	0,81	0,268	1312	56,98	0,043
5,4	0,86	0,160	729	37,49	0,051
9	0,92	0,102	437,4	26,05	0,060
16,2	1,21	0,075	243	15,64	0,064
27	1,78	0,066	145,8	8,68	0,060
48,6	3,16	0,065	81	4,72	0,058
81	5,35	0,066	48,6	2,36	0,049
145,8	9,26	0,063	27	1,27	0,047
243	16,16	0,066	16,2	0,92	0,057
437,4	26,57	0,061	9	0,81	0,089
729	38,18	0,052	5,4	0,75	0,138
1312	57,10	0,044	3	0,63	0,211

При этом незначительная площадь «петли гистерезиса» и малое значение предельного напряжения сдвига, при котором начинается течение системы указывает на то, что текучесть суппозиторной массы после плавления при температуре 37°C уже достаточна для проведения технологических операций по изготовлению суппозитория. Это указывает на возможность мягкой термообработки суппозиторной массы во время проведения технологического процесса, что положительно влияет на сохранность суппозитория на липофильной основе во время хранения. При изготовлении липофильных суппозитория массу обычно подвергают нагреву в пределах 50–65°C [13,17,18,19], но в данном случае результаты консистентной оценки суппозитория с каптоприлом при температуре человеческого организма позволяют прогнозировать успешное проведение технологического процесса изготовления ректальной лекарственной формы при температуре 40–45°C.

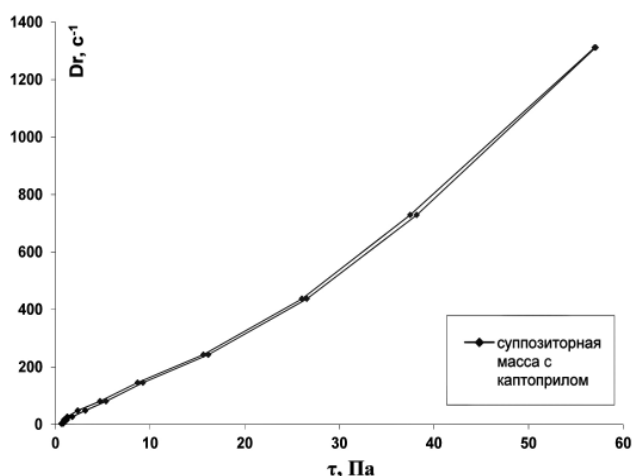


Рис. 2. Реограмма течения суппозиторной массы с каптоприлом на липофильной основе при температуре 45°C.

Результаты установления зависимости величины эффективной вязкости от скорости сдвига для изучаемой суппозиторной массы с каптоприлом на липофильной основе при температуре 45°C представлены в таблице 2. Реограмма течения суппозиторной массы с каптоприлом при температуре 45°C представлена на рис. 2.

Представленные результаты показывают, что структурно-механические свойства суппозиторной массы с каптоприлом при температуре 45°C практически не отличаются от таковых при температуре 37°C. Неизменным остается и показатель «механической стабильности». Это свидетельствует, что температурная обработка суппозиторной массы в пределах 40–45°C обеспечивает степень текучести, позволяющую проводить технологические операции по изготовлению лекарственной формы, а значит ее повышение нецелесообразно.

Выводы

1. Проведено изучение консистентных свойств суппозитория с каптоприлом на липофильной основе при температуре человеческого тела. Установлено, что лекарственная форма является структурированной системой с выраженными тиксотропными свойствами, в которой происходит равномерное распределение биологически активных и вспомогательных веществ как в момент изготовления, так при применении и длительном хранении.

2. Выявлено, что повышение температуры суппозиторной массы до 45°C не приводит к изменению ее структурно-механических свойств.

3. С учетом полученных данных установлено, что температурный режим изготовления суппозитория с каптоприлом (процессы смешивания, гомогенизации, розлива в формы) в пределах 40–45°C обеспечивает достаточную текучесть суппозиторной массы, обеспечивающую равномерное распределение действующих и вспомогательных веществ в данной лекарственной форме.

Список литературы

1. Горбась І.М. Епідеміологічні аспекти поширеності артеріальної гіпертензії та дисліпідемій серед населення України / І.М. Горбась // Здоров'я України. – 2008. – №6. – С. 30–31.
2. Дядык А.И. Артериальные гипертензии в современной клинической практике / А.И. Дядык, А.Э. Багрий. – Донецьк: Норд-Пресс, 2006 – 322 с.
3. Ленфант К. Гипертензия и ее последствия: Состояние проблемы в мире / К. Ленфант // Здоров'я України. – 2006. – №5. – С. 32.
4. Сидоренко Б.А. Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента / Б.А. Сидоренко, Д.В. Преображенский. – М.: ЗАО «Информатик», 1999. – 253 с.
5. Шишлова М.В. Вплив інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу на центральну та церебральну гемодинаміку у хворих з цереброваскулярною недостатністю: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.15 «Нервові хвороби» / М.В. Шишлова. – К., 2001. – 23 с.
6. Гогин Е.Е. Гипертоническая болезнь: основы патогенеза, диагностика и выбор лечения / Е.Е. Гогин // Consilium medicum. – 2004. – Т. 6, №5. – С. 31–40.
7. Excess mortality associated with diuretic therapy in diabetes mellitus / J.H. Warram, Z.M.B. Zaffel, P. Valsania [et al.] // Arch. Intern. Med. – 1991. – Vol. 151 (7). – P. 1350–1356.
8. Chinese Cardiac Study Collaborative Group. Oral captopril versus placebo among 13 634 patients with suspected myocardial infarction: interim report from the Chinese Cardiac study (CCS-1) // Lancet. – 1995. – Vol. 345. – P. 686–687.
9. Кечин І.Л. Фармакологічна корекція неускладнених гіпертензивних кризів антигіпертензивними препаратами для аплікаційного застосування: автореф. дис. ... докт. мед. наук: спец. 14.01.28 «Клінічна фармакологія» / І.Л. Кечин. – К., 2003. – 41 с.
10. Изучение влияния вида носителя и поверхностно-активных веществ на биофармацевтические свойства суппозиториев с каптоприлом / Абдуллах Жумаа Алмохамад, В.В. Гладышев, А.П. Лисянская, И.Л. Кечин // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. ХХІУ, №2. – С. 102–104.
11. Алмохамад Жумаа Абдуллах Вивчення впливу концентрації поверхнево-активних речовин на вивільнення каптоприлу з ректальних супозиторіїв / Абдуллах Жумаа Алмохамад, Гладышев В.В., Лисянская Г.П., Кечин І.Л. // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, №3 (48). – С. 41–43.
12. Алмохамад Жумаа Абдуллах Изучение микробиологической чистоты ректальных суппозиториев с каптоприлом / Абдуллах Жумаа Алмохамад, Н.Л. Колычева, С.А. Гладышева // Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє: Тези доп. 72 Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. – Запоріжжя, 2012. – С. 173–174.
13. Тихонов О.І. Вивчення структурно-механічних властивостей супозиторіїв з вмістом фенольного гідрофобного препарату прополісу та ліпофільного екстракту пилку квіткового / О.І. Тихонов, О.В. Кривов'яз, Т.М. Зубченко. // Вісник фармації. – 2010. – №4 (64). – С. 3–6.
14. Гладышев В.В. Теоретическое и экспериментальное обоснование создания мягких лекарственных форм антимикотического действия: дис. ... д-ра фармац. наук: 15.00.01 / Гладышев Виталий Валентинович. – Запорожье, 1997. – 363 с.
15. Тенцова А.И. Современные аспекты исследования и производства мазей / А.И. Тенцова, В.М. Грецкий. – М.: Медицина, 1980. – 191 с.
16. Цагареишвили Г.В. Биофармацевтические, фармакокинетические и технологические аспекты создания мягких лекарственных форм (ректальные препараты) / Г.В. Цагареишвили, В.А. Головкин, Т.А. Грошовый. – Тбилиси: Мецниереба, 1987. – 263 с.
17. Головкин В.А. Лекарственные средства для ректального применения в педиатрии / В.А. Головкин, В.В. Головкин, Ю.П. Ткаченко. – Запорожье: «Просвіта», 2006. – 140 с.
18. Головкин В.А. Вагинальные лекарственные средства: особенности разработки, исследования и применения / В.А. Головкин, В.В. Головкин, А.В. Головкин. – Запорожье: РИП «Видавець», 2000. – 271 с.

Сведения об авторах:

Алмохамад Жумаа Абдуллах, аспирант каф. технологии лекарств ЗГМУ.
Бурлака Б.С., к. фарм. н., ассистент каф. технологии лекарств ЗГМУ.
Гладышева С.А., к. фарм. н., ассистент каф. технологии лекарств ЗГМУ.
Романина Д.М., ассистент каф. технологии лекарств ЗГМУ.

Надійшла в редакцію 23.07.2012 р.

К.О. Дегтярьова, О.І. Тихонов

Термографічне дослідження фенольного гідрофобного препарату прополісу і жовчі великої рогатої худоби для подальшого створення комплексного препарату у формі таблеток

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова:

термогравіметричний аналіз, технологія, комбіновані таблетки.

Ключевые слова:

термогравиметрический анализ, технология, комбинированные таблетки.

Key words: thermal analysis,

technology, combined medicines.

Для добору оптимальних умов виробництва комплексного препарату необхідно дослідити поведінку діючих речовин під впливом температурного фактора, щоб виключити можливість їх хімічних перетворень у передбаченому інтервалі температур, а головне, виключити можливість взаємодії між собою, що може викликати небажаний фармакологічний ефект. Наведено результати досліджень термографічного аналізу субстанцій фенольного гідрофобного препарату прополісу і жовчі великої рогатої худоби у широкому діапазоні температур. Підтверджено відсутність взаємодії діючих речовин між собою в передбаченому інтервалі температур.

Для подбора оптимальных условий производства комплексного препарата необходимо исследовать поведение действующих веществ под воздействием температурного фактора, чтобы исключить возможность их химических превращений в предусмотренном интервале температур, а главное, исключить возможность взаимодействия между собой, что может привести к нежелательному фармакологическому эффекту. Приведены результаты исследований термографического анализа субстанций фенольного гидрофобного препарата прополиса и желчи крупного рогатого скота в широком диапазоне температур. Подтверждено отсутствие взаимодействия действующих веществ между собой в предусмотренном интервале температур.

For selection of optimal conditions of production of complex medication is necessary to investigate the behavior of active substances under the influence of the temperature factor, to avoid any chemical transformations in the prescribed temperature range, and most importantly, to exclude the possibility of interaction with each other, which can lead to undesirable pharmacological effect. The results of studies thermographic analysis of phenolic substances hydrophobic drug propolis and bile of cattle in a wide temperature range. Confirmed by the lack of interaction between the active ingredients in a prescribed temperature range.

Сучасний стиль життя людини (стреси, надлишкове харчування, низька фізична активність, паління, алкоголь), а також несприятливі впливи навколишнього середовища, на жаль, можуть бути факторами ризику різноманітних захворювань внутрішніх органів, у тому числі захворювань гепатобіліарної системи (ГБС). За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, за останні 20 років відзначається тенденція до зростання кількості хронічних захворювань печінки різної етіології. Кількість хворих з патологією ГБС перевищує 2 млрд людей. В Україні за останні 10 років поширеність хвороб ГБС збільшилась у 2,5 рази [3,9].

Печінка є важливою залозою, що забезпечує постійність внутрішнього середовища організму. У ній утворюються жовчні пігменти, відбувається синтез холестерину, синтез і секреція жовчі, знешкодження токсичних продуктів, що надходять зі шлунково-кишкового тракту, депонування плазми крові і формених елементів, а також регуляція системи крові. Отже, терапія захворювань органів ГБС системи є однією з найактуальніших задач сучасної медицини [6,9].

Хвороби печінки, жовчного міхура та жовчних шляхів тісно пов'язані, і захворювання одного органу супроводжується змінами в іншому [14].

Комплексна терапія цих захворювань потребує, в

першу чергу, використання безпечних препаратів, що мають широкий спектр терапевтичної дії. Найповніше цим параметрам відповідають препарати, діючими речовинами в яких є сполуки рослинного та тваринного походження [2,14].

Уже багато років прополіс успішно застосовують у терапії захворювань ГБС завдяки вмісту цінних фармакологічно активних природних сполук, що проявляють широкий спектр фармакологічної дії: проти-запальну, регенеруючу, репаративну, антиоксидантну, антимікробну, імуностимулюючу [7,10,15].

Одним із достатньо вивчених біооб'єктів тваринного походження є жовч, яку здавна застосовували в народній медицині.

Жовч великої рогатої худоби (ВРХ) використовують як знеболуючий, протизапальний і розсмоктуючий засіб, крім того, вона входить до складу декількох вітчизняних жовчогінних препаратів [2].

Комбінація двох і більше речовин, що взаємодіють з компенсаторними відповідями кожного з них, значно збільшує загальну фармакологічну дію препарату [13].

Для підбору оптимальних умов виробництва комплексного препарату необхідно дослідити поведінку діючих речовин під впливом температурного фактора, щоб виключити можливість їх хімічних перетворень у перед-

бачуваному інтервалі температур і, головне, виключити можливість взаємодії між собою, що може викликати небажаний фармакологічний ефект [4,11].

Термоаналітичні методи аналізу використовують для випробування хімічних реакцій і фізичних перетворень, що відбуваються під впливом температури в хімічних сполуках або між окремими речовинами у випадку багатокомпонентних систем. Перетворення призводить до поглинання або виділення теплоти. Ці теплові ефекти можуть бути з більшою чутливістю виявлені методом диференційно-термічного аналізу (ДТА). Перетворення в багатьох випадках пов'язано також зі зміною маси. На підставі кривої ТГ можна побачити, як саме при нагріванні змінюється вага досліджуваної речовини [8].

При нагріванні речовин до певної температури можлива зміна хімічної структури аж до деструкції зразка з повним вигоранням. Слід зазначити, що характер перетворень залежить від хімічної будови речовини та умов її нагрівання. Використання термографічного аналізу у фармацевтичній технології дозволяє дослідити можливість хімічних взаємодій компонентів лікарських форм у широкому діапазоні температур та обґрунтувати температурні режими виробництва і зберігання лікарського препарату [5,12].

Більшість таблетованих лікарських форм у сучасній фармацевтичній практиці отримують таблетуванням грануляту. Це пов'язано з відсутністю у біологічно активних субстанцій необхідних фізико-хімічних і технологічних властивостей. Для поліпшення технологічних властивостей необхідно робити попередню грануляцію таблеткової маси. Тому доцільним є визначення температурних процесів сушіння вологих гранул [1].

Мета роботи

Дериватографічний аналіз окремих діючих речовин та їх суміші для підтвердження можливості створення на їх основі комплексного лікарського препарату гепатопротекторної дії у формі таблеток.

Матеріали і методи дослідження

Термографічному аналізу піддавали зразки субстанції фенольного гідрофобного препарату прополісу (ФГПП) та жовчі великої рогатої худоби (ВРХ).

Дериватографічне дослідження в динамічному режимі та повітряному середовищі проводили на дериватографі Q-1500D з самописцем фірми «МОМ» (Угорщина). Для отримання дериватограм обрано наступні умови: середня маса навážки зразків складала 200 ± 30 мг, температурний інтервал (залежно від випробуваної субстанції): ФГПП – від 22°C до 250°C , жовч (ВРХ) – від 18°C до 250°C ; швидкість нагрівання – $2,5^\circ\text{C}/\text{хв}$. Чутливість дериватографа для кривої ТГ – 50 мг, для DTG – 2,5 мВ, ДТА – 100 мкВ, швидкість руху паперу – 5 мм/хв.

Для дослідження втрати маси при рівномірному підвищенні температури навážки поміщали в тигель і під дериватографа, включали нагрівання. Отримані дані прилад фіксував графічно в координатах: по осі абсцис – час, по осі ординат – приріст температури, різницю температур і зміну маси. Дериватограма була сукупністю одночасно записаних простої $T = f(\tau)$ (зміна температури) і диференційної кривої нагрівання DTA/

dt (крива зміни теплових ефектів), а також простої $TG = f(\tau)$ (зміна маси) і диференційної кривої втрати маси $DTG/d\tau = f(\tau)$. Зіставлення кривих дозволило встановити фазові зміни в системі (видалення летючих компонентів, термічне розкладання речовин тощо). За оптимальну температуру приймали температуру кінця термічного ефекту в системі, пов'язану з видаленням вологи, а також при якій речовини не розплавлялись і не розкладались.

Результати та їх обговорення

За даними дериватографічного аналізу ФГПП (рис. 1) встановлено відсутність зміни маси субстанції в температурному діапазоні від 22°C до 155°C . Субстанція є стабільною, а отже відсутній процес розкладання, про що свідчить крива зміни маси ТГ.

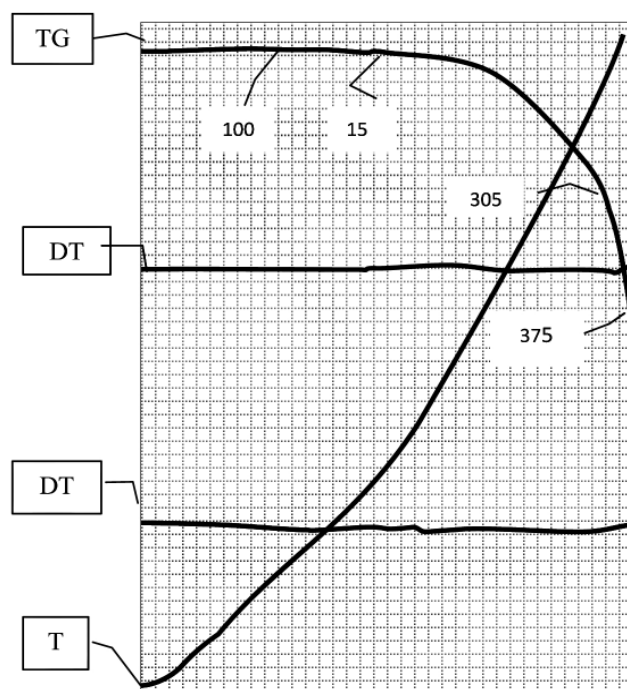


Рис. 1. Дериватограма фенольного гідрофобного препарату прополісу.

Розщеплення з максимальною швидкістю проходило у два етапи: перша стадія – при 305°C з втратою у масі 18%, тобто 36 мг субстанції ФГПП; при температурі 375°C спостерігають другу стадію розкладання субстанції з втратою у масі 38%, тобто 72 мг.

При подальшому аналізі зі зростанням температури вище 375°C дериватограф фіксував багато маленьких піків, що вказувало на варіювання субстанції та зупинку на цьому аналізі.

На дериватограмі субстанції жовчі ВРХ (рис. 2) можна побачити, що втрата в масі відбувалась у декілька стадій. Перша стадія – в інтервалі температур $18-70^\circ\text{C}$ з втратою у масі 6,5%, тобто 13 мг. До 100°C відбулась друга стадія втрати маси, що склала також 6,5% (13 мг). До 150°C втрата в масі склала 7% (14 мг). До 200°C субстанція втратила в масі ще 7% (14 мг). Весь цей час розкладання субстанції не спостерігали, однак зміна в масі свідчить,

найімовірніше, про втрату сорбційної вологи. Температура, за якої спостерігали максимальну швидкість розщеплення субстанції жовчі ВРХ, склала 350°C.

Дериваторграма субстанцій ФГПП і жовчі ВРХ у суміші (рис. 3) показала наступні результати: до температури 60°C речовини у суміші стабільні; в інтервалі температур 60–109°C втрата у масі складає 2% від наважки з максимальною швидкістю виділення маси 1,0 мг при температурі 85°C. Також не визначено наявності ендотермічних реакцій. За температури понад 185°C

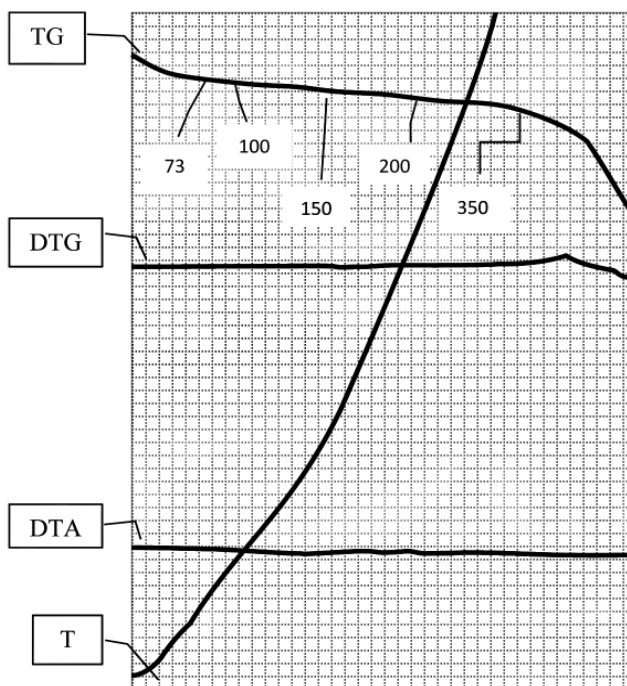


Рис. 2. Дериваторграма жовчі ВРХ.

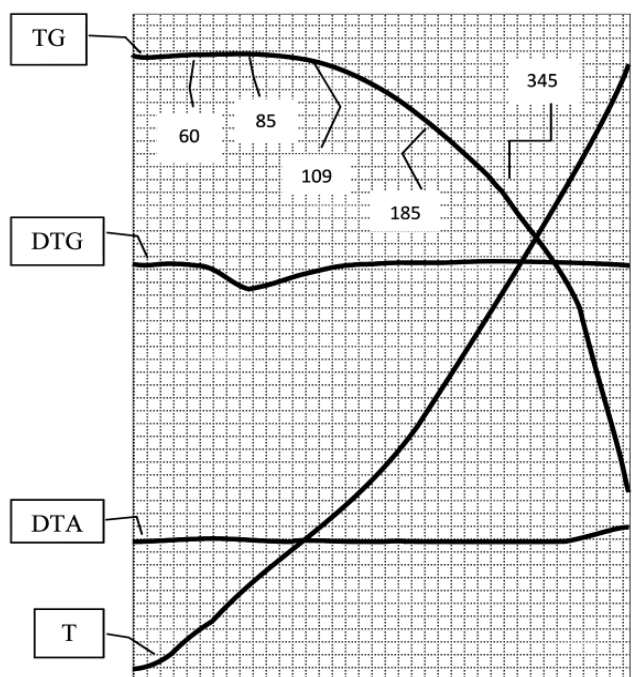


Рис. 3. Дериваторграма суміші ФГПП і жовчі ВРХ.

відбувається кипіння. Максимальна швидкість розщеплення речовини – за температури 345°C.

Відсутність на дериваторграмі чітко виражених нових піків кривої DTA, згідно з дериваторграмами субстанцій ФГПП і жовчі ВРХ (тобто відсутність суттєвих екзо- або ендотермічних реакцій), свідчить про відсутність процесів між взаємодіючими речовинами суміші.

З метою визначення часу сушіння вологих гранул з ФГПП та жовчю ВРХ до попередньо встановленої залишкової вологи (2–2,5%) досліджено кінетику процесу сушіння у сушарці псевдозрідженого шару.

Експериментальні дані цього дослідження наведено на рис. 4, з якого видно, що інтенсивну втрату вологи у гранулах спостерігають протягом перших 50 хв, потім цей процес уповільнюється. Через 90 хв від початку експерименту визначено припинення втрати вологи, вологість грануляту наближається до рівноважного значення 1–1,5%.

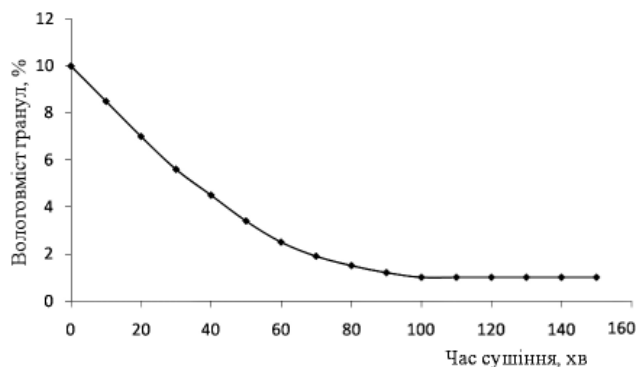


Рис. 4. Кінетика процесу сушіння вологих гранул у сушарці псевдозрідженого шару.

Отже, для отримання гранул з залишковою вологою 2–2,5% час сушіння складає 60 хв.

На основі дериваторграфічного аналізу можна стверджувати, що суміш речовин є стабільною за температури нижче 345°C, а отже саме в цьому температурному діапазоні з нею можна проводити технологічні операції.

Висновки

Здійснено термографічний аналіз окремих діючих речовин ФГПП і жовчі ВРХ, запропонованих для введення до складу нового комплексного лікарського препарату у формі таблеток гепатопротекторної дії.

Досліджено поведінку цих речовин у суміші в широкому діапазоні температур, встановлено відсутність їх хімічних перетворень.

Доведено, що за температури понад 18°C спостерігають втрату вологи у субстанції жовчі ВРХ, що буде враховано при подальшій розробці таблеток методом вологої грануляції.

Обґрунтовано оптимальну температуру сушіння вологих гранул при виробництві таблеток.

Перспективи подальших досліджень полягатимуть у розробці комплексного лікарського препарату гепатопротекторної дії у формі таблеток методом вологої грануляції.

Список літератури

1. *Гладух Є.В.* Термографічний аналіз таблеток альтану / Гладух Є.В., Тиманюк В.О. // Медична хімія. – 2003. – Т. 5, №1. – С. 86–88.
2. *Дикий І.Л.* Перспективи створення комплексних препаратів на основі жовчі та її компонентів / Дикий І.Л., Шевельова Н.Ю. // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, №3. – С. 43–45
3. *Попович В.П.* Дослідження асортименту гепатопротекторів ринку України / Попович В.П. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – №1 (20). – С. 75–81
4. *Степаненко С.В.* Дериватографічний аналіз окремих діючих речовин та їх суміші у ході створення комплексного препарату пульмоногічного призначення / Степаненко С.В., Чуєшов В.І., Тюкін М.Б. та ін. // Фармакокінетика і фармакодинаміка лікарських засобів. – 2009. – №3. – С. 79–82.
5. *Стрілець О.П.* Термографічне дослідження нового комбінованого препарату із гіпотензивною дією / Стрілець О.П. // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т. 5, №4. – С. 29–31.
6. *Слободянюк Н.Н.* Рынок препаратов для лечения патологической гепатобилиарной системы в Украине / Слободянюк Н.Н., Котляров Г.Б. // Провизор. – 2008. – №3. – С. 8–16.
7. *Тихонов А.И.* Создание лекарственных апипрепаратов на основе субстанций продуктов пчеловодства / Тихонов А.И., Бондарчук Л.И., Ярных Т.Г. и др. // Провизор. – 2008. – №23–24. – С. 28–32.
8. *Тиманюк В.А.* Биофизика: Учеб. для студ. Вузов / Тиманюк В.А., Животова Е.Н. – Х.: Изд-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 704 с.
9. *Behar J., Corazziari E. et al.* // Gastroenterology. – 2006. – №130. – P. 1498–1509
10. *Castaldo S.* Propolis, an ald remedy in modern medicine / Castaldo S., Capasso F. // Fitoterapia. – 2002. – №73. – P. 1–6
11. *European Pharmacopoeia* – 4-th ed., 2001. – 2416 p.
12. *Giron D.* // Encyclopedia of Pharm. Technol. – 2002. – Vol. 88. – P. 337–346.
13. *Le Couteur D., Fraser R., Hilmers et al.* // Clin. Pharmacokinet. – 2005. – №44. – P. 187–200.
14. *Mayer K.E., Meyers R.P., Lee S.S.* // S. Viral Hepatitis. – 2005. – №12. – P. 559–567.
15. *Pavaliuc P.P.* Bee product in the supporting and strengthening of human health / Pavaliuc P.P., Mantoption A.L., Condriatic Sh. G. – Kishinev: Academy sciences of Moldova, 2005. – P. 121.

Відомості про авторів:

Дегтярьова К.О., аспірант каф. аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала НФаУ.

Тихонов О.І., д. фарм. н., академік УАН, професор каф. аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала НФаУ.

Надійшла в редакцію 06.06.2012 р.

С.М. Коваленко, І.І. Баранова

Експериментальне дослідження з вибору гелеутворювача при розробці засобу для лікування діабетичних виразок

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: реограма, структурна в'язкість, тіоктова кислота, алантоїн, гель, діабетичні виразки.

Ключевые слова: реограмма, структурная вязкость, тиоктовая кислота, аллантоин, гель, диабетические язвы.

Key words: reograma, structural viscosity, thioctic acid, allantoin, gel, diabetic ulcers.

Вивчено структурно-механічні та фізико-хімічні властивості гелів з тіоктовою кислотою та алантоїном на основі перспективних гелеутворювачів «АМАЗЕ ХТ», «Structure XL», ГЕЦ і карбомера Ultrez-10 NF. Експериментально встановлено, що зразки гелю з карбомером марки Ultrez-10 NF мають найкращі структурно-механічні, фізико-хімічні властивості та споживчі характеристики.

Изучены структурно-механические параметры гелей с тиоктовой кислотой и аллантоином на основе перспективных гелеобразователей «АМАЗЕ ХТ», «Structure XL», ГЕЦ и карбомера Ultrez-10 NF. Экспериментально установлено, что образцы геля с карбомером марки Ultrez-10 NF имеют наилучшие структурно-механические, физико-химические свойства и потребительские характеристики.

The article is devoted to the studying of structurally-mechanical, physical and chemical properties of gels with thioctic acid and allantoin as active ingredients and based on perspective compounds: «АМАЗЕ ХТ», «Structure XL», GEC and carbomer Ultrez-10 NF as gelling agents. It was experimentally founded that samples of the gel with carbomer Ultrez-10 NF possessed the best structurally-mechanical, physical and chemical characteristics and consumer properties.

Проблема лікування діабетичних виразок (ДВ) залишається актуальною у фармації [3,4,6,18]. За деякими даними, при тривалості цукрового діабету (ЦД) понад 20 років вірогідність ураження нижніх кінцівок перевищує 80%, а 40–70% усіх нетравматичних ампутацій проводять у хворих на ЦД, при цьому найближча післяопераційна летальність перевищує 20% [4,5,17]. У 85% випадків ампутаціям передують ДВ [4–6,12,17]. Поширеність ДВ серед хворих ЦД у розвинених країнах складає 4–10%. Тривалий перебіг, високий ступінь інвалідизації та післяопераційної летальності виводять ускладнення ЦД, такі як ДВ, на рівень важливої медико-соціальної проблеми, що вимагає розробки нових ефективних засобів для їх терапії [11,15,17,19].

Отже, для ефективнішого лікування ДВ необхідна комплексна терапія, що має включати як сучасні пероральні, парентеральні лікарські препарати, так і засоби місцевої дії.

Зараз найрозповсюдженішими для лікування цих важких ускладнень ЦД є лікарські препарати з тіоктовою кислотою, однак засоби для зовнішнього застосування з цією речовиною відсутні.

Тому перспективною є розробка лікарських засобів з тіоктовою кислотою м'якої форми випуску (гель) місцевої дії. Для підвищення ефективності гелю обрано додаткову діючу речовину алантоїн, що має репаративну, протизапальну та ранозагоюючу дії. За допомогою біологічних досліджень обрано ефективні концентрації цих речовин, зокрема тіоктової кислоти – 1%, алантоїну – 0,1%.

У попередніх дослідженнях з розробки стабільної гелевої основи проведено комплекс фізико-хімічних досліджень для обрання гелеутворювача та розчинника тіоктової кислоти (пропіленгліколю) [8–11]. У результаті структурно-механічних досліджень на першому етапі в якості гелеутворювача обрано карбомер марки Ultrez-10 NF.

Надалі значний інтерес становило дослідження зразків гелів з тіоктовою кислотою та алантоїном з низкою сучасних гелеутворювачів. Приготовано зразки гелів з модифікованими гелеутворювачами: гідроксипропілованим фосфатом крохмалю під комерційною назвою «Structure XL» (далі «Structure XL») та дигідроксиксантановою камеддю під комерційною назвою «АМАЗЕ ХТ» (далі «АМАЗЕ ХТ») [2], а також з широко використовуваним у фармації гелеутворювачем гідроксиетилцелюлозою (ГЕЦ) [13].

Мета роботи

Вивчення структурно-механічних параметрів гелевих композицій на основі таких гелеутворювачів: ГЕЦ, «Structure XL» та «АМАЗЕ ХТ». Проведення порівняльного аналізу структурно-механічних і фізико-хімічних досліджень зразків гелевих основ з гелеутворювачами карбомером Ultrez-10 NF, ГЕЦ, «Structure XL», «АМАЗЕ ХТ».

Матеріали і методи дослідження

У якості об'єктів дослідження обрано гелеві зразки з тіоктовою кислотою та алантоїном, додатково використовували низку допоміжних речовин, необхідних при розробці гелевих основ або розчинення обраних активних речовин (карбомер Ultrez-10 NF, «АМАЗЕ ХТ», ГЕЦ «Structure XL», трометамол, пропіленгліколь, вода очищена).

Структурно-механічні дослідження проводили на віскозиметрі BROOKFIELD DV-II+PRO з ротаційним шпинделем SC4-21 (США). Структурну в'язкість η (мПа·с) та напруження зсуву τ_r (Па) вимірювали при різних швидкостях зсуву $D\dot{\gamma}$ або $\dot{\gamma}$ (с⁻¹). З метою об'єктивного оцінювання реопараметрів за даними отриманих значень розраховано коефіцієнти динамічного розрідження (K_d) та механічної стабільності (МС) зразків

гелів [1,16,18]. Дослідження здійснено при 20 об/хв та при 20°C.

Рівень значення рН досліджуваних зразків визначали потенціометрично (ДФУ 1.2, 2.2.3 і) за допомогою приладу «рН Meter Metrohm 744» (Німеччина).

Результати та їх обговорення

На даному етапі розроблено зразки гелів з гелеутворювачами «АMAZE XT», «Structure XL» і ГЕЦ (концентрації цих речовин обрано згідно до результатів раніше проведених експериментів) [2]. Необхідно зазначити, що спеціальні умови для приготування гелів не знадобились: у воду очищену додавали обраний гелеутворювач і при середніх оборотах мішалки протягом 20–30 хв отримували однорідну напівпрозору основу, що при додаванні пропіленгліколевого розчину тіоктової кислоти ставала жовтою. Спостережено, що з гелеутворювачем «Structure XL» гелева основа розшарувалась протягом 3 хвилин, тому з подальшого експерименту його виключено.

У ході порівняльного дослідження (з реограмою зразку з карбомером) побудованих реограм (рис. 1) з наведеними гелеутворювачами відзначено, що усі зразки мають неньютонівський тип течії та пластичні властивості: при зниженні напруження зсуву в'язкість поступово відновлюється, це свідчить про певні тиксотропні властивості, що з'явилися за рахунок пропіленгліколю.

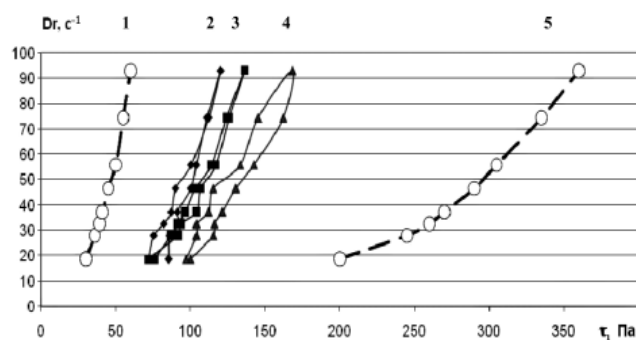


Рис. 1. Реограма зразків гелю з гелеутворювачем: 2 – ГЕЦ; 3 – «АMAZE XT»; 4 – карбомер «Ultrez-10 NF»; 1,5 – межі реологічного оптимуму.

З рис. 1 видно, що всі зразки гелів знаходяться у межах реологічного оптимуму [1], що у подальшому передбачає задовільні технологічні й реологічні показники готового засобу на основі цих речовин. Однак зразки гелю з ГЕЦ мали незадовільні споживчі характеристики, тому з подальших досліджень їх виключено.

Для вибору оптимального гелеутворювача виконано порівняльний аналіз ряду показників гелів (МС та K_d) з карбомером Ultrez-10 NF і «АMAZE XT» (табл. 1).

Як видно з отриманих даних, у обох зразків стабільні та закономірні значення досліджуваних показників. Тобто значення МС було близьким до оптимального (1), що свідчить про незначний ступінь руйнування структурного каркасу гелю та припускає, що ступінь руйнування структурної сітки даних гелів у процесі механічних дій є мінімальним. З аналізу даних видно, що K_d основ значно нижчі, ніж відповідний показник розроблених гелів, що припускає якісніше нанесення розробленого гелю на шкіру при розтиранні, а також забезпечить краще розрідження під час перемішування у реакторі.

Необхідно зазначити, що споживчі характеристики були задовільними в обох випадках. Побудовано також залежність структурної в'язкості зразків досліджуваних гелів від швидкості зсуву (рис. 2).

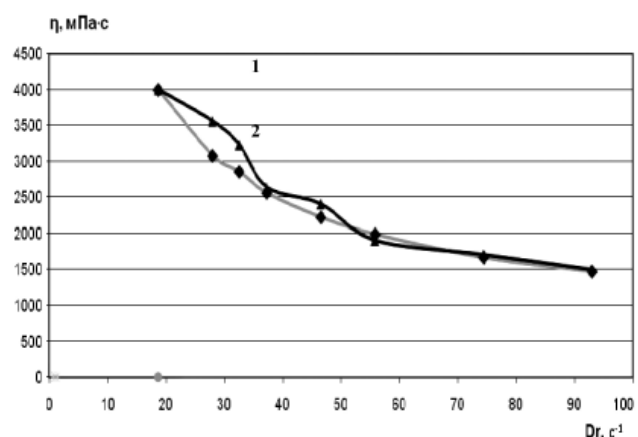


Рис. 2. Залежність структурної в'язкості гелів від швидкості зсуву.

Примітка: 1 – зразок з карбомером «Ultrez-10 NF», 2 – зразок з «АMAZE XT».

Порівняльні дослідження показали, що структурна в'язкість у обох випадках постійно зменшувалась зі збільшенням градієнта швидкості зсуву. Це пов'язано з типом течії гелевих основ і структурою (нааявністю у складній сітці обраних гелеутворювачів водневих комплексів слабо зв'язаних молекул, що легко руйнуються в умовах прикладання зсуву). Ці зміни характеризують розроблені гелеві основи як класичні структуровані дисперсні системи, що мають аномальну в'язкість.

Таблиця 1

Структурно-механічні характеристики досліджуваних зразків гелів (за температури 20°C)

Найменування показника	Гелева основа з карбомером марки Ultrez-10 NF 3	Гель з карбомером марки Ultrez-10 NF	Гелева основа з «АMAZE XT»	Гель з «АMAZE XT»
МС	1,0	1,14	1,24	1,07
Коефіцієнт динамічного розрідження, K_d	40,3	62,5	35,7	70,2

Тобто на цьому етапі важко обрати оптимальний гелеутворювач. Враховуючи, що карбомери найчастіше використовуються при розробці засобів місцевої дії та відповідають основним вимогам до таких препаратів якості гелеутворювача остаточно обрано карбомер. Також відомо, що обрана марка карбомеру (Ultrez-10 NF) має кращі технологічні та споживчі характеристики, а також є найменш токсичною серед використуваних карбомерів [14]. Враховано, що необхідний нейтралізатор карбомеру – триметамол – є додатковим розчинником однієї з активних речовин гелю, що розробляли, – тіоктової кислоти.

Отже, у якості гелеутворювача для гелю обрано карбомер марки Ultrez-10 NF.

Висновки

Вивчено структурно-механічні та фізико-хімічні властивості гелів з тіоктовою кислотою та алантоїном на основі перспективних гелеутворювачів («AMAZE XT», «Structure XL», ГЕЦ і карбомер Ultrez-10 NF).

Доведено, що найкращі споживчі структурно-механічні, фізико-хімічні властивості мали зразки гелю на основі карбомеру марки Ultrez-10 NF.

Показано, що гель з тіоктовою кислотою та алантоїном на основі карбомеру марки Ultrez-10 NF є пружно-в'язкопластичною системою з помірними тиксотропними властивостями та задовільними споживчими характеристиками.

Список літератури

1. Баранова І.І. Порівняльне дослідження структурно-механічних параметрів ряду лікарських та косметичних гелів з метою визначення реологічного оптимуму / І.І. Баранова, Н.П. Половко // Погляд вгору световната наука – 2010: матеріали VI Межд. науч.-практ. конф., София, 17–25 дек. 2010 г. – София, 2010. – С. 6–8.
2. Баранова І.І. Теоретичне та експериментальне обґрунтування застосування сучасних гелеутворювачів природного та синтетичного походження у технології м'яких лікувально-косметичних засобів: дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.01 / І.І. Баранова – Харків, 2011. – 308 с.
3. Бахарев І.В. Синдром диабетической стопы: диагностика, лечение, профилактика / Бахарев И.В., Редькин Ю.А. // Сахарный диабет. – 2003. – №1. – С. 14–17.
4. Грекова Н.М. Хирургия диабетической стопы / Н.М. Грекова, В.Н. Бордуновский – М., 2009. – 188 с.
5. Светухин А.М. Гнойно-некротические формы синдрома диабетической стопы / А.М. Светухин, А.Б. Земляной // Consilium medicum. – 2002. – Т. 4, №10. – С. 35–42.
6. Дибиров М.Д. Современные возможности консервативного и хирургического методов лечения гнойно-некротических поражений стоп у больных сахарным диабетом / М.Д. Дибиров М.Д., Д.И. Черкезов, Р.А. Манушарова // РМЖ. – 2005. – Т. 13, №28. – С. 1915–1918.
7. Изучение реологических показателей гелей с папаверина гидрохлоридом и альпростадиллом / В.В. Гладышев, А.А. Люлько, Б.С. Бурлака [та ін.] // Запорожский мед. журн. – 2007. – №4 (43). – С. 140–144.
8. Коваленко С.М. Обґрунтування складу гелю з тіоктовою кислотою та алантоїном / С.М. Коваленко, І.І. Баранова // Актуальні питання медичної науки та практики: Зб. наук. пр. ДЗ «ЗМАПО МОЗ України»; Вип.78, Т. 2, Кн. 2. – Запоріжжя, 2011. – С. 139–146.
9. Коваленко С.М. Розробка технології гелю з тіоктовою кислотою та алантоїном для лікування діабетичних виразок / С.М. Коваленко, І.І. Баранова // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, №3. – С. 32–35.
10. Коваленко Св.М. Вивчення деяких властивостей тіоктової кислоти з метою розробки м'якої лікарської форми / Коваленко Св.М. // Мат. II науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології», м. Харків (17–18 листопада 2011 р.). – Харків, 2011. – С. 85–86.
11. Комелягина Е.Ю. Факторы риска и профилактика синдрома диабетической стопы / Е.Ю. Комелягина, М.Б. Анциферов // РМЖ. – 2003. – Т. 11, №27. – С. 1503–1507.
12. Лебединец О.В. Изучение ряда реопараметров гелевой основы с гидроксипропилцеллюлозой / О.В. Лебединец, И.И. Баранова, И.М. Грубник // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – Вип. 13, №1. – С. 55–57.
13. Пуляев Д.С. Розробка складу та технології м'якої лікарської форми для лікування захворювань опорно-рухового апарату та флебітів: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: спец. 15.00.01 «Технологія ліків, організація фармацевтичної і медичної науки та судова фармація» / Д.С. Пуляев – Х., 2011. – 20 с.
14. Справочник по гидроколлоидам / Под. ред. Г.О. Филиппа, П.А. Вильямса; пер. с англ.; под ред. А.А. Кочетковой, Л.А. Сарафановой. – СПб.: «ГИОРД», 2008. – 536 с.
15. Строков И.А. Актювегин по сравнению с плацебо у пациентов с диабетической полинейропатией / Строков И.А. – М., 2009. – 72 с.
16. Токмакова А.Ю. Современная концепция ведения больных с хроническими ранами и сахарным диабетом / А.Ю. Токмакова, Г.Ю. Страхова, Г.Р. Галстян // Сахарный диабет. – 2005. – №1. – С. 28–34.
17. Boulton A.J.M. International collaboration on the diabetic foot: a 15-year progress report / A.J.M. Boulton // Diabet Metab Res Rev. – 2004. – Vol. 20, №1. – P. 2–3.
18. Efficacy of DL-alpha lipoic acid against systemic inflammation-induced mice: antioxidant defense system / E.P. Jesudason, J.G. Masilamoni, C.E. Jebaraj [et al] // Mol Cell Biochem. – 2008. – Vol. 313, №1–2. – P. 113–123.
19. A proposed assessment framework for developing best practice recommendations for wound assessment / D.H. Keast, K.D. Bowering, A.W. Evans [et al] // Wound Rep Reg. – 2004. – №12. – 17 p.

Відомості про авторів:

Коваленко С.М., к. фарм. н., доцент каф. управління якістю НФаУ.

Баранова І.І., д. фарм. н., професор каф. косметології і ароматології НФаУ.

Надійшла в редакцію 28.08.2012 р.

Г.П. Кухтенко¹, О.О. Ляпунова¹, О.А. Лисокобилка²

Вивчення структурно-механічних властивостей крему на основі емульсії і роду

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

²ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», м. Харків

Ключові слова: емульсія, емульгатор, реологічні властивості, структурна в'язкість.

Ключевые слова: эмульсия, эмульгатор, реологические свойства, структурная вязкость.

Key words: emulsion, emulsifier, rheological properties, structural strength.

За результатами структурно-механічних досліджень обґрунтовано оптимальний склад емульсійної кремової основи, підібрано концентрації емульгаторів першого та другого роду.

На основі результатів структурно-механических исследований обоснован оптимальный состав эмульсионной кремовой основы, подобраны концентрации эмульгаторов первого и второго рода.

Based on the results of structural and mechanical studies, the optimal composition of the emulsion cream base was substantiated. The concentration of first and second type emulsifier was chosen.

Креми, як і всі структуровані системи, мають певні консистентні властивості, що відображають їх якість, здатність до екструзії з туби, зручність і легкість нанесення на поверхню шкіри. Структурно-механічні, або реологічні показники є найважливішою характеристикою, що визначає стійкість в'язко-дисперсних систем. Вивчення цих показників має важливе значення при розробці лікарського засобу, встановленні температурних режимів технологічного процесу виробництва та стандартизації готового лікарського засобу. Крім того, Державна Фармакопея України вимагає, щоб усі лікарські засоби, що мають консистентні властивості, мали постійні реологічні параметри, оскільки вони відображають як лікувальні, так і споживчі характеристики препарату [2,4,6,7].

Мета роботи

Розробка оптимальної кремової основи для створення лікарського засобу з вмістом глюкокортикостероїду метилпреднізолону ацепонату.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження є кремова основа, що складається з 21% масляної фази та 14% емульгаторів. До складу масляної фази, за результатами попередніх досліджень, опублікованих в окремій статті, ввійшли ізопропілмірістат, 2-октилдодеканола, 2-гексилдецилстеарат. У якості емульгатора 1 роду використовували макрогол-37-стеарат, емульгаторами 2 роду були гліцерилмоностеарат і цетостеариловий спирт. Дисперсійним середовищем є вода очищена. Вибір концентрації емульгаторів проводили шляхом її варіювання від 0 до 11% [3,5,8].

Реологічні дослідження кремової основи проводили на ротатійному віскозиметрі з коаксіальними циліндрами «Реотест-2» (Німеччина) за методикою Державної Фармакопеї України (2.2.10) у широкому діапазоні швидкостей зсуву. За результатами вимірювання будували реограми залежності напруження зсуву (τ) від градієнта швидкості зсуву (D) та залежність структурної в'язкості (η) від концентрації емульгаторів, за якими

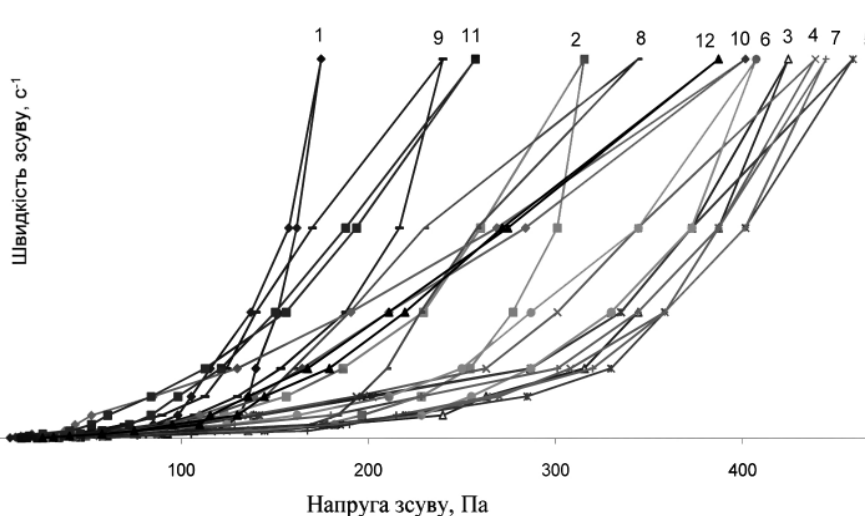


Рис. 1. Реограми емульсії залежно від співвідношення емульгаторів гліцеринмоностеарат / цетостеариловий спирт: 1 – 11,0/0,0%; 2 – 10,0/1,0%; 3 – 9,5/1,5%; 4 – 9,0/2,0%; 5 – 8,5/2,5%; 6 – 8,0/3,0%; 7 – 7,5/3,5%; 8 – 7,0/4,0%; 9 – 5,0/6,0%; 10 – 3,0/8,0%; 11 – 1,0/10,0%; 12 – 0,0/11%.

визначали межу і тип течії та наявність тиксотропних властивостей. При виборі співвідношення емульгаторів брали до уваги температуру кремоутворення зразків і характер зміни структурної в'язкості від співвідношення емульгаторів [1,2].

Дисперсний аналіз зразків емульсій проводили за методикою ДФУ на оптичному мікроскопі Krüss MBL 1200 з мікрометричною решіткою при збільшенні у 150 разів [2].

Результати та їх обговорення

З метою розробки оптимальної кремової основи виготовлено ряд емульсій, в яких при однаковій сумарній концентрації емульгаторів 2 роду гліцерилмоностеарату та цетостеарилового спирту (11%) варіювали їх співвідношення. На *рис. 1* наведено реограми досліджуваних зразків, з яких видно, що при зміні співвідношення емульгаторів відбувається зміна реологічних показників. Усі зразки мають не ньютонівський тип течії, при збільшенні концентрації цетостеарилового спирту до 4% спостерігається збільшення нижньої межі течії у зразках 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 та її зменшення зі зменшенням концентрації гліцерилмоностеарату у зразках 9, 10, 11, 12. Усі

зразки утворюють петлі гістерезису, площі яких свідчать про наявність більше чи менше виражених тиксотропних властивостей [1,5,7].

При дослідженні залежності структурної в'язкості від співвідношення емульгаторів гліцерилмоностеарату та цетостеарилового спирту (*рис. 2*) відбувається поступове збільшення структурної в'язкості до певного значення та подальше її зменшення. При цьому на графіку характерне утворення «плато», на якому розташовані найбільш стійкі до напруження зсуву зразки. Виходячи з отриманих даних, оптимальним співвідношенням емульгаторів гліцерилмоностеарату та цетостеарилового спирту є проміжок концентрацій 8,5/2,5%, 8,0/3,0%, 7,5/3,5%.

Наступним етапом виконаної роботи стало визначення концентрації емульгатору 1 роду макрогол-37-стеарату. Для досліду готували 12 зразків емульсій, у яких варіювалась концентрація макро голу-37-стеарату від 0% до 14%. На *рис. 3* наведено типові реограми плинину зразків, з яких видно, що зразки 1, 9 та 10 мають псевдопластичний тип течії, зразки 11, 12 – ньютонівський тип, решта зразків характеризуються пластичним типом течії.

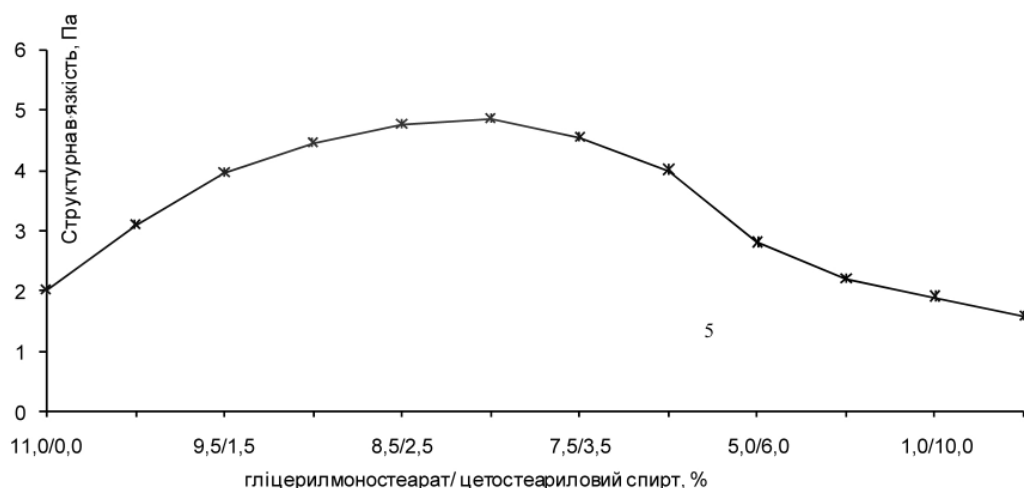


Рис. 2. Залежність структурної в'язкості від концентрації емульгаторів 2 роду гліцерилмоностеарату та цетостеарилового спирту при швидкості зсуву 81 с⁻¹.

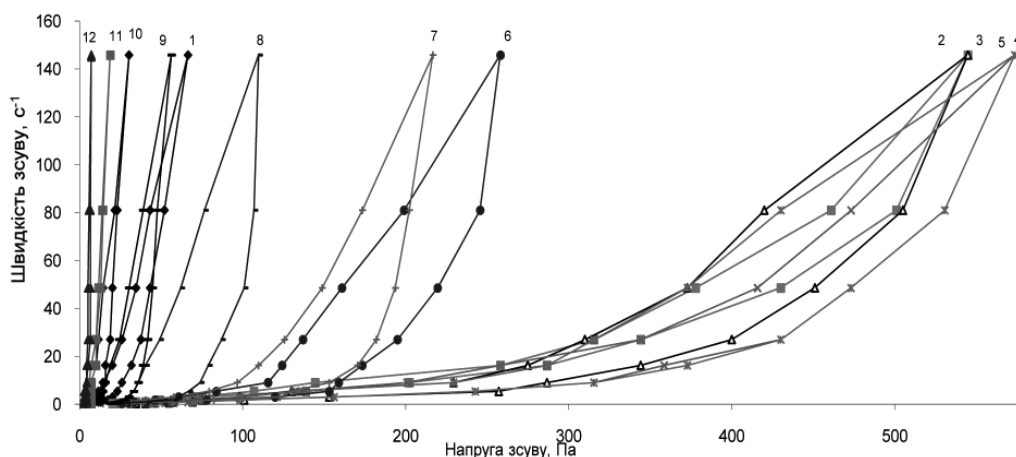


Рис. 3. Реограми 21% емульсії залежно від співвідношення емульгатора макрогол-37-стеарату: 1 – 0,0%; 2 – 1,0%; 3 – 2,0%; 4 – 2,5%; 5 – 3,0%; 6 – 3,5%; 7 – 4,0%; 8 – 6,0%; 9 – 8,0%; 10 – 10,0%; 11 – 12,0%; 12 – 14,0%.

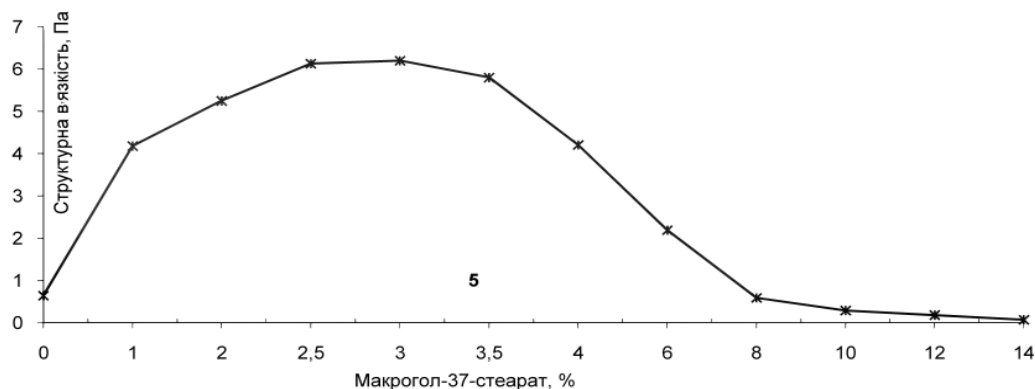


Рис. 4. Залежність структурної в'язкості від концентрації емульгатора макрогол-37-стеарату при швидкості зсуву 81 c^{-1} .

З наведених на рис. 4 даних можемо зробити висновок, що із введенням до складу емульсії макроголу-37-стеарату спостерігається різке збільшення структурної в'язкості. Так, при концентрації макроголу-37-стеарату від 1% до 4% зразки мають найбільше значення структурної в'язкості. За результатами досліджень встановлено, що оптимальною концентрацією макроголу-37-стеарату є 2,5%, 3,0% або 3,5%.

Для остаточного визначення концентрації емульгаторів 1 та 2 роду виконано дисперсійний аналіз зразків виготовлених емульсій.

Ступінь дисперсності емульсійних кремів є важливим показником, що визначає їх стабільність і консистенцію. Оптимальною дисперсністю частин емульсійних кремів вважають розміри, що становлять 1–2 мкм [5,6]. При дисперсному аналізі зразків емульсій, виготовлених з

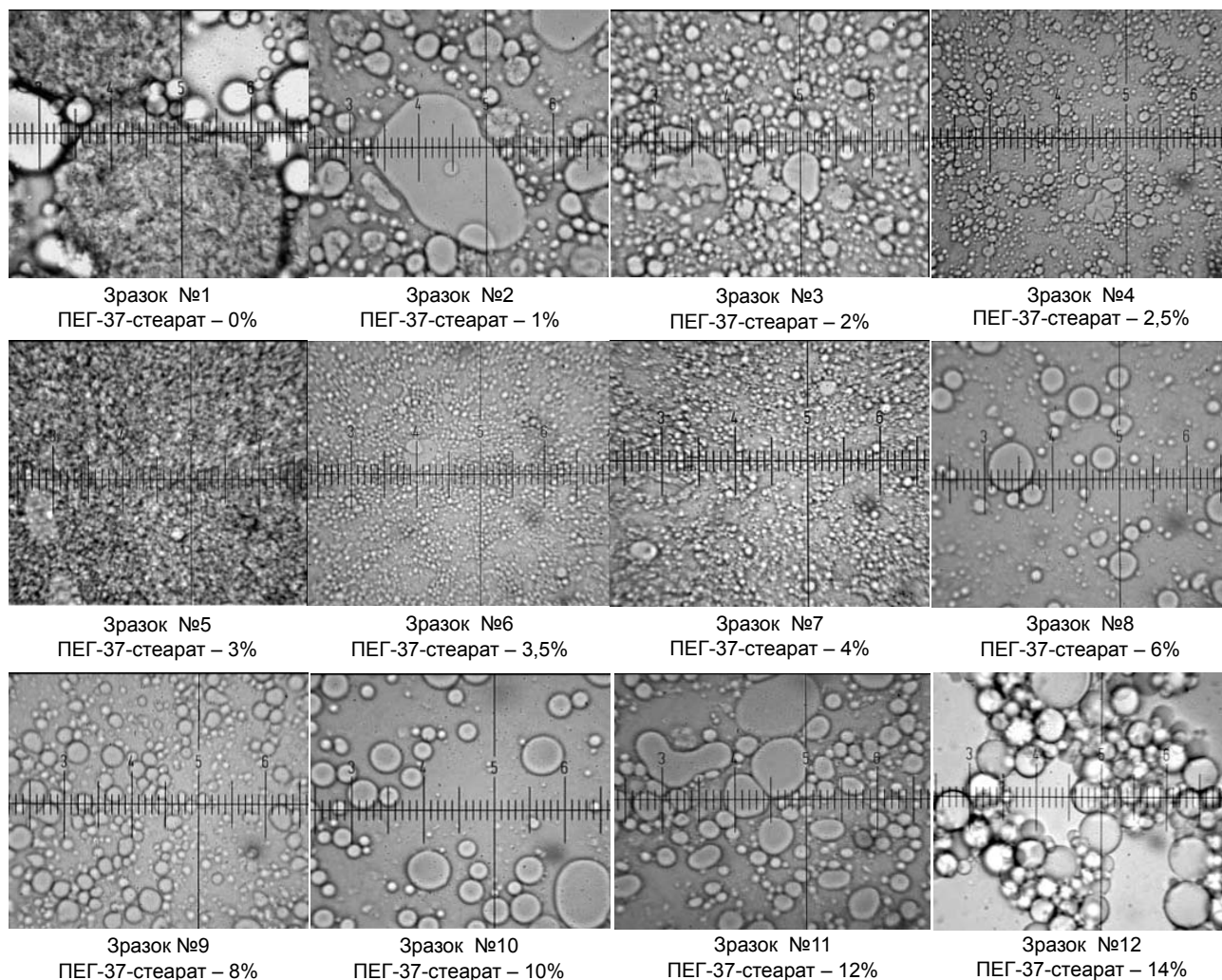
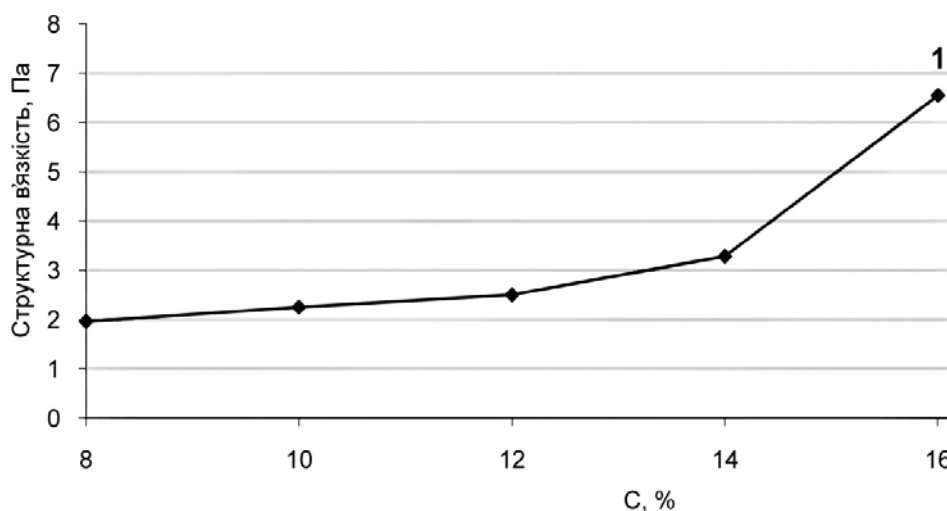


Рис. 5. Мікрофотографії зразків емульсій, виготовлених з різною концентрацією емульгатора 1 роду ПЕГ-37-стеарату.

Таблиця 1

Склад модельних зразків емульсій, виготовлених з різною концентрацією емульгаторів 2 роду

№ зразка	Співвідношення емульгаторів в емульсії	№ зразка	Співвідношення емульгаторів в емульсії
№1	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 11% / 0%	№7	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 7,5% / 3,5%
№2	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 10% / 1%	№8	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 7% / 4%
№3	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 9,5% / 1,5%	№9	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 5% / 6%
№4	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 9% / 2%	№10	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 3% / 8%
№5	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 8,5% / 2,5%	№11	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 1% / 10%
№6	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 8% / 3%	№12	гліцерилмоностеарат / цетостеариловий спирт 0% / 11%

Рис. 6. Залежність структурної в'язкості кремкових основ від сумарної концентрації емульгаторів при 25°C та швидкості зсуву 81с⁻¹.

різною концентрацією емульгаторів 2 роду (табл. 1), встановлено, що зразки 1–8 мають частки емульсії розміром 1–3 мкм, їх ущільненість має максимум у зразках 7 та 8, що відповідає концентрації гліцерилмоностеарату та цетостеарилового спирту 7,5%/3,5% та 8,0%/4,0%. У зразках 9–12 частки емульсії мають переважно розміри від 6,5 мкм до 12,5 мкм з низькою ущільненістю. З погляду отримання термодинамічно стійкої емульсії раціонально обрати концентрацію 7,5%/3,5%, оскільки концентрація 8,0%/4,0% є граничною, після якої розміри часток емульсії мають розміри переважно 12,5 мкм.

У результаті дисперсного аналізу емульсій з різною концентрацією емульгатора 1 роду макрогол-37-стеарату (рис. 5) встановлено, що зразки емульсій 1, 2, 3, 8, 9, 10, 11, 12 мають розміри часток, що варіюються від 3 до 12,5 мкм. Зразки під номером 4, 5, 6, 7 мають частки емульсії розміром 1–2 мкм з поодинокими частками у 6,5 мкм і їх високою ущільненістю. Для отримання стійкої емульсії раціонально обрати концентрацію ПЕГ-37-стеарату 3,5%, що відповідає зразку №6.

Надалі визначали оптимальну сумарну концентрацію емульгаторів. Для дослідження виготовлено 5 зразків

при співвідношенні емульгаторів гліцерилмоностеара: цетостеариловий спирт: ПЕГ-37-стеарат 2,14:1:1,17, що відповідає встановленій концентрації, з сумарною концентрацією 8%, 10%, 12%, 14%, 16%; визначали їх реологічні характеристики, наведені на рис. 6.

За допомогою структурно-механічних досліджень отриманих емульсій встановлено, що зразки з сумарною концентрацією емульгаторів 8%, 10% та 12% мають низькі показники структурної в'язкості. Зразок з сумарною концентрацією емульгаторів 16% має високі показники структурної в'язкості, що може ускладнити процес фасування крему у туби та погіршити його споживчі характеристики. Оптимальною сумарною концентрацією емульгаторів є 14%.

На основі розробленої кремкової основи створено вітчизняний препарат високої якості з вмістом метилпреднізолону ацепонату для лікування алергодерматозів.

Висновки

На основі реологічних досліджень обґрунтовано оптимальну концентрацію емульгаторів 1 та 2 роду.

Встановлено оптимальну сумарну концентрацію емульгаторів, що склала 14%.

Список літератури

1. Аркуша А.А. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума концентраций: дис. ... к. фарм. н.: 15. 00. 01 / Аркуша Анатолий Алексеевич. – Х., 1982. – 184 с.
2. Державна фармакопея України. – 1-е вид. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – Х.: ТОВ «ПРЕГ», 2001. – 556 с.; Доп. 1. – 2004. – 494 с.
3. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. для студ. вищ. фармацев. навч. закл. / [Дмитрієвський Д.І., Рибачук В.Д., Хоменко В.М. та ін.]; за ред. І.М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.
4. МВ 42-01-2002. Лікарські засоби. Порядок дослідження стабільності та становлення терміну придатності. – К. : МОЗ України, 2002. – 16 с.
5. Тенцова А.И. Современные аспекты исследования и производства мазей / А.И. Тенцова, В.М. Грецкий. – М.: Медицина, 1980. – 192 с.
6. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків / під ред. проф. І.М. Перцева – Вінниця: Нова книга, 2007. – 728 с.
7. Цагарейшвили Г. В. Консистентные свойства мягких лекарственных средств и методы их измерения / Г.В. Цагарейшвили, Г.С. Башура. – Тбилиси: Мецниереба, 1969. – 97 с.
8. European Pharmacopoeia. 5 Edition, 2005. – Strasburg: Council of Europe, 2005. – 2416 p.

Відомості про авторів:

Кухтенко Г.П., аспірант каф. промислової фармації НФаУ.

Ляпунова О.О., к. фарм. н., доцент каф. промислової фармації НФаУ.

Лисокобилка О.А., мол. н. с. лаб. рідких і м'яких лікарських засобів і аерозолів ДП «ДНЦЛЗІМП».

Надійшла в редакцію 03.09.2012 р.

О.І. Тихонов, О.О. Ковальова

Дослідження стабільності препарату «Антисепт-Апі» у процесі зберігання

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: стабільність, термін придатності, лікарський препарат, показники якості.

Ключевые слова: стабильность, срок годности, лекарственный препарат, показатели качества.

Key words: stability, shelf life, medicine, index of quality.

На основі фізичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних і біологічних досліджень встановлено термін придатності та умови зберігання препарату для ветеринарної медицини «Антисепт-Апі».

На основании физических, физико-химических, фармако-технологических и биологических исследований установлен срок годности и условия хранения препарата для ветеринарной медицины «Антисепт-Апи».

Based on conducted physical, physical and chemical and pharmaco-technological, biological researches the shelf live term, condition of storage of medicine for veterinary medicine «Antysept-Api» were determined.

Стабільність (стійкість) лікарських препаратів і їх якість тісно пов'язані. Дослідження стабільності залежно від різних чинників, встановлення термінів придатності готових препаратів становить одну з найважливіших проблем, розв'язанням якої займаються фахівці різних галузей фармації [1,5].

Стабільність є важливим показником якості лікарських препаратів, бо забезпечує збереження їх терапевтичних і профілактичних властивостей, у більшості випадків протягом декількох років у процесі зберігання. Стабільність має бути об'єктом пильної уваги на етапах розробки і реєстрації препаратів, оскільки цей показник не перевіряється на серійній продукції в межах вихідного, споживчого чи державного контролю якості.

Критерієм стабільності є збереження якості лікарських препаратів. Зменшення кількісного вмісту фармакологічно активної речовини в препараті підтверджує його нестабільність. Цей процес характеризується константою швидкості розкладання діючих речовин [3,4].

Під терміном придатності лікарських засобів розуміють період часу, протягом якого вони мають повністю зберігати свою терапевтичну активність, нешкідливість і за рівнем якісних і кількісних характеристик відповідати вимогам, що висуваються у нормативній документації, відповідно до якої були випущені та зберігались готові препарати.

Після закінчення терміну придатності лікарські засоби не можуть бути використані без переконтролю якості та відповідної зміни встановленого терміну придатності. Існує певний зв'язок між поняттям «термін придатності», що має часовий сенс, і поняттям «стабільність», що зумовлює якість лікарського засобу (його стійкість) [3,8].

Розкладання лікарських речовин можна встановити на вигляд. Проте утворення продуктів розкладання не завжди супроводжується помітним зниженням фармакологічної активності. Це пояснюється тим, що зовнішні зміни можуть бути викликані розкладанням незначної кількості діючих речовин з утворенням нетоксичних або індивергентних продуктів розкладання. Нормативна документація допускає певну кількість таких домішок у лікарських речовинах.

Стабільність – одна з найважливіших характеристик лікарського засобу. Підприємство медичної та ветеринарної промисловості повинне гарантувати вміст терапевтичної дози діючих речовин у лікарській формі протягом певного терміну зберігання при певних умовах зберігання [3].

Мета роботи

Дослідження стабільності препарату «Антисепт-Апі» в процесі зберігання.

Матеріали і методи дослідження

На кафедрі аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала сумісно з Харківською державною біологічною фабрикою під керівництвом акад. УАН, д. фарм. н., засл. проф. О.І. Тихонова розроблено ветеринарні піноутворюючі палички для лікування ендометритів у великої рогатої худоби «Антисепт-Апі». Препарат у якості діючих речовин містить ципрофлоксацину гідрохлорид і фенольні сполуки настойки прополісу 20%.

Палички закладені на зберігання при кімнатній температурі (15–25°C) у двох видах упаковки: контурно-чарунковій упаковці на основі плівки ПВХ (ГОСТ 25250-88) і фольги алюмінієвої друкарської лакованої (ТУ 48–21–27088 або ГОСТ 745–79) та пластмасовому контейнері.

У процесі зберігання паличок за допомогою фізичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних і біологічних методів визначали наступні показники: зовнішній вигляд, середню масу, розпадання, вміст тальку та аеросилу, стираність, стабільність піни, кількість піни, утвореної при розпаді палички, однорідність вмісту, мікробіологічну чистоту згідно до ДФУ.

Мікробіологічні дослідження проводили на базі Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова».

Для якісного виявлення фенольних сполук настойки прополісу 20% у препараті «Антисепт-Апі» застосовували класичні реакції ідентифікації: ціанідинову пробу за Бріантом, з розчином свинцю (II) ацетату основного, з 10% спиртовим розчином натрію гідроксиду та з 5% розчином заліза (III) хлориду. Ідентифікацію хлорид-іону ципрофлоксацину гідрохлориду в препараті проводили

згідно ДФУ 1-е вид., доп. 2, С. 587 (з фільтрувальним папером, просякнутим 0,1 мл розчином дифенілкарбазиду Р) [2].

Кількісне визначення фенольних сполук настойки прополісу 20% у препараті проводили за допомогою УФ-спектроскопії з подальшою комп'ютерною обробкою результатів дослідження за допомогою програмного забезпечення «Спектр» для «Windows». Вимірювали оптичну густину розчину досліджуваного зразку препарату на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі (290±2 нм), використовуючи як розчин порівняння спирт етиловий 96%.

Кількісне визначення ципрофлоксацину гідрохлориду в препараті проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) згідно ДФУ, 1-вид,

доп. 2., с. 587–589 на рідинному хроматографі фірми «GILSTON» (Франція) з подальшою комп'ютерною обробкою результатів дослідження за допомогою програми «МультиХром» для «Windows» [6,7].

Як об'єкти досліджень використовували спиртовий розчин розтертого порошку 20 паличок «Антисепт-Апі».

Досліджували зразки препарату кожні 3 місяці у порівнянні з вихідними даними. Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно з ДФУ (n=5).

Результати та їх обговорення

Експериментальні результати вивчення стабільності препарату «Антисепт-Апі» та обґрунтування вибору раціональної упаковки при температурі 15–25°C наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати вивчення стабільності паличок «Антисепт-Апі» у процесі зберігання в контурно-чарунковій упаковці при температурі 15–25°C

Найменування показників (норми за проектом МКЯ)	Первинний аналіз	Термін зберігання, міс.									
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	
Опис	Палички циліндричної форми з заокругленими кінцями від білого до світло-жовтого кольору										
Ідентифікація: ципрофлоксацину гідрохлорид	Фільтрувальний папір, просякнутий 0,1 мл розчином дифенілкарбазиду Р забарвлюється у фіолетово-червоний колір (хлориди)										
фенольні сполуки настойки прополісу	У випробуваному розчині УФ-спектр поглинання розчину препарату у діапазоні від 220 до 320 нм має максимум при довжині хвилі 290±2 нм З розчином свинцю (II) ацетату основного утворюється осад світло-жовтого кольору Зі спиртовим 5% розчином заліза (III) хлориду утворюється буро-зелене забарвлення										
Середня маса (від 4,75 до 5,25 г)	5,01±0,05	5,00±0,05	5,00±0,05	5,00±0,05	5,00±0,05	5,00±0,05	5,00±0,05	5,00±0,05	4,97±0,05	4,97±0,05	4,97±0,05
Розпадання (не більше 15 хв)	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1	13±1
Тальк (не більше 2%)	Відповідає										
Аеросил (не більше 3%)	Відповідає										
Стираність (не більше 1%)	0,80±0,01	0,79±0,02	0,80±0,03	0,80±0,02	0,80±0,03	0,80±0,04	0,80±0,03	0,80±0,02	0,80±0,03	0,80±0,03	0,80±0,03
Стабільність піни (не менше 15 хв.)	19,0±1,0	19,0±1,0	18,8±1,1	18,6±1,2	18,1±1,0	17,7±1,4	17,6±1,0	17,1±1,0	17,0±1,1	17,0±1,1	17,0±1,1
Кількість піни, утвореної при розпаданні палички, (не менше 150 мл)	180±1	180±1	178±1	175±1	170±2	168±1	166±1	164±1	162±1	162±1	162±1
Однорідність вмісту (від 85 % до 115 %)	Відповідає										
Мікробіологічна чистота, КУО в 1 г: (бактерій і грибів не більше 10 ²) не має бути <i>Staphylococcus aureus</i> та <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<10 ²										
	Не виявлено										
Кількісний вміст: ципрофлоксацину гідрохлориду в паличці (від 0,190 до 0,210 г)	0,197±0,003	0,197±0,003	0,195±0,002	0,194±0,001	0,195±0,002	0,195±0,003	0,196±0,004	0,195±0,004	0,196±0,005	0,195±0,004	0,195±0,004
суми фенольних сполук настойки прополісу (не менше 0,02 г/паличку)	0,024±0,002	0,024±0,002	0,023±0,001	0,023±0,002	0,024±0,003	0,023±0,002	0,024±0,003	0,022±0,001	0,022±0,001	0,022±0,001	0,023±0,002

Встановлено, що в процесі зберігання палички «Антисепт-Апі» у контурно-чарунковій упаковці при температурі 15–25°C мали незмінні фізичні, фізико-хімічні, фармако-технологічні та біологічні показники якості, значення яких вкладається у норми, встановлені за розробленим проектом методів контролю якості на препарат «Антисепт-Апі».

Палички дають чіткі позитивні реакції на фенольні сполуки настойки прополісу 20% та на хлорид-іон (ципрофлоксацину гідрохлорид).

Кількісний вміст діючих речовин коливається в межах помилки вимірювань протягом двох років зберігання при температурі 15–25°C. Палички «Антисепт-Апі» відповідають вимогам ДФУ до мікробіологічної чистоти (клас 2).

У процесі зберігання паличок у пластмасових контейнерах при температурі 15–25°C спостерігається зміна зовнішнього вигляду, середньої маси, розпадання, погіршуються показники піноутворення, що вказує на

недостатню герметичність цього виду упаковки (у пластмасові контейнери потрапляє волога, що призводить до поступового руйнування ТЛФ).

Висновки

Експериментально доведено, що ветеринарні палички «Антисепт-Апі» стабільні протягом двох років при зберіганні у контурно-чарунковій упаковці при температурі 15–25°C. За таких умов опрацьовано показники якості (зовнішній вигляд, середня маса, розпадання, вміст тальку й аеросилу, стираність, стабільність піни, кількість піни, утвореної при розпаді палички, однорідність вмісту, мікробіологічна чистота, якісний і кількісний вміст діючих речовин) препарату вкладаються в норми, зазначені розробленим проектом методів контролю якості на препарат.

Перспективи подальшої роботи полягають в оформленні ресстраційного досьє з подальшим впровадженням ветеринарного препарату в промислове виробництво.

Список літератури

1. *Богуцька О.Є.* Визначення стабільності настойки «Гретаваоск» / Богуцька О.Є. // Вісник фармації. – 2012. – №1 (69). – С. 42–46.
2. Державна фармакопея України / Державне п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 2 допов. – Х.: РІРЕГ, 2008. – 620 с.
3. *Ляпунов Н.А.* Актуальные вопросы хранения лекарственных средств в аптечных учреждениях / Ляпунов Н.А. // Аптека. – 2011. – №804 (33). – С. 12–16.
4. *Михайленко В.В.* Розробка методик аналізу та вивчення стабільності гелю «Апі-арт» / Михайленко В.В., Тихонов О.І., Черненко В.П. // Вісник фармації. – 2011. – №4 (68). – С. 28–30.
5. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: навч. посіб. / І. М. Перцев, О. Х. Пімінов, М. М. Слободянюк та ін.; за ред. І.М. Перцева. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 728 с.
6. Allometric analysis of ciprofloxacin and enrofloxacin pharmacokinetics across species / S.K. Cox, M.B. Cottrell, L. Smith et al. // J. vet. Pharmacol. Therap. – 2004. – Vol. 27. – P. 139–146.
7. Analysis of quinolones residues in edible animal products / J.A. Herna'ndez-Arteseros, J. Barbosa, R. Compan'õ et al. // J. Chromatogr. – 2002. – Vol. 945. – P. 1–24.
8. *Jasinska M.* Stability studies of expired tablets of metoprolol tartate and propranolol hydrochloride / Jasinska M, Karwowski B, Orszulak D. // Acta Palaniae Pharmaceutica-Drug Research. – 2009. – Vol.66. – P. 697–701

Відомості про авторів:

Тихонов О.І., академік Української АН, д. фарм. н., професор каф. аптечної технології ліків НФаУ.
Ковальова О.О., к. фарм. н., асистент каф. аптечної технології ліків НФаУ.

Надійшла в редакцію 06.06.2012 р.

В.А. Шевченко, В.С. Бондарь, Т.Д. Губченко

Некоторые аспекты фармацевтической разработки парентерального лекарственного средства «Милдрокард»

*Институт повышения квалификации специалистов фармации
Национального фармацевтического университета, г. Харьков*

Ключові слова: милдронат, контейнери, поліетилен, ін'єкційний розчин, склад, рН розчину.

Ключевые слова: милдронат, контейнеры, полиэтилен, инъекционный раствор, состав, рН раствора.

Key words: mildronat, containers, polyethylene, injection solution, composition, pH solution.

Описано підходи до фармацевтичної розробки препарату стосовно визначення оптимальних меж рН розчину милдронату. Вивчено стабільність розчину в ампулах з критичними значеннями рН середовища.

Приведены подходы к фармацевтической разработке препарата относительно определения оптимальных пределов рН раствора милдроната. Изучена стабильность раствора в ампулах с критическими значениями рН среды.

The approaches to the developing of determination of optimal pH intervals for the mildronat solution were described in this article. The stability solution in ampules with critical values of pH was studied.

Широко распространенный в странах СНГ препарат милдронат является эффективным лекарственным средством метаболической терапии ряда заболеваний, в патогенезе которых важное звено занимает ишемия тканей [1–4,16].

Последние десятилетия ознаменовались возрождением интереса к препаратам, оказывающим позитивное влияние на метаболизм сердечной мышцы в условиях гипоксии как к средствам патогенетической терапии ишемической болезни сердца. Толчком к изменению представлений о роли цитопротекторов в терапии ишемической болезни сердца послужили новые данные о нарушениях метаболизма в ишемизированной сердечной мышце, а также разработка на их основе новых высокоэффективных лекарственных средств, таких как триметазидин, милдронат, мексикор и др. [2–6].

Инъекционный раствор милдроната выпускают в настоящее время в стеклянных ампулах по 5 мл. В последние годы в фармацевтической индустрии наблюдается рост производства инъекционных растворов лекарственных средств в первичной пластиковой упаковке для одноразового использования. Основными преимуществами пластиковых ампул являются безопасное использование без загрязнения, исключение повреждения во время использования и вероятности порезов и уколов пальцев, извлечение содержимого без использования иглы, исключение возможности попадания в раствор бактерий, частиц стекла или пластика, удобные и безопасные условия транспортировки.

Международные производители парентеральных препаратов (AstraZeneca (Швеция), B. Braun Melsungen AG (Германия), Euro-Med Laboratories Phill, Inc. (Филиппины), Marck Biosciences LTD (Индия)) широко используют указанные пластиковые ампулы объемом от 2 до 10 мл при выпуске многих инъекционных препаратов (магния сульфат, диклофенак, лидокаин и др.).

Технологические и потребительские преимущества одноразовых пластиковых ампул свидетельствуют о

целесообразности их внедрения при производстве инъекционного препарата милдроната в Украине.

Цель работы

Проведена фармацевтическая разработка парентерального лекарственного средства на основе милдроната под названием милдрокард, раствор для инъекций, 100 мг/мл в полиэтиленовых ампулах по 5 мл, выпуск которого осуществляется на ООО «НИКО» (г. Макеевка, Украина).

Материалы и методы исследования

При разработке состава и технологии получения раствора в качестве активной субстанции использовали 3-(2,2,2-триметилгидразиний)-пропионата дигидрат (Милдроната дигидрат) производства фирмы «Chemrio International Limited», Китай. Милдроната дигидрат описан в Государственной фармакопее Российской Федерации, 12 изд., с. 585 под названием Мельдоний, в ведущих фармакопеех (BP, USP, EP и др.) и в ГФУ субстанция не описана [7–13].

Качественный и количественный состав данного лекарственного средства разработан в результате изучения данных специализированной литературы и проведения экспериментальной работы.

Для выбора оптимального состава и получения стабильной инъекционной лекарственной формы исследовали физико-химические и технологические свойства субстанции Милдроната дигидрата.

Результаты и их обсуждение

Милдронат является производным гидразиния и пропионовой кислоты [14,15]. По химическим свойствам достаточно стабилен в различных средах, кроме сильно щелочных значений рН среды, не подвергается деструктивным превращениям. Исходя из указанных фактов, в состав лекарственной формы на его основе в виде раствора для инъекций не вводили стабилизаторы или другие вспомогательные вещества.

Одним из основных физических параметров при создании парентеральной лекарственной формы на основе

Таблица 1

Показатели качества раствора милдроната 10% в ампулах с критическими значениями pH среды

Показатели	Время наблюдения	Номера серий			
		4	5	6	7
pH	начальное	6,24	7,32	8,25	9,15
	12 мес. хранения	6,44	7,51	8,43	9,37
Прозрачность	начальное	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
	12 мес. хранения				
Цветность	начальное	Бесцветный	Бесцветный	Бесцветный	Бесцветный
	12 мес. хранения				
Механические включения	начальное	Отсутствие	Отсутствие	Отсутствие	Отсутствие
	12 мес. хранения				
Количественное содержание милдроната (от 0,09 до 0,11 г/мл)	начальное	0,101	0,105	0,099	0,101
	12 мес. хранения	0,100	0,103	0,101	0,101

Милдроната дигидрата является оптимальное значение pH среды, при котором сохраняется стабильность активного ингредиента.

Пределы pH для препарата-аналога «Милдронат, раствор для инъекций» составляют 7,0–9,0. Следовательно, критические значения pH для разрабатываемого препарата «Милдрокард» должны быть ниже и выше этих пределов. С целью уточнения этого интервала проведены исследования растворов милдроната 10% с различными значениями pH, которые достигали добавлением различных количеств 1 М раствора натрия гидроксида (ГФУ, 4.2.2) или 1 М раствора кислоты хлористоводородной (ГФУ 4.2.2) [11].

Приготовленные растворы фильтровали через мембранные фильтры с размером пор 0,45 мкм. Фильтратом наполняли полиэтиленовые ампулы по 5,3 мл, герметизировали их и стерилизовали при 100°C в течение 30 мин. За образцами проводили наблюдение в течение наблюдаемого срока хранения (12 мес.). Результаты исследований представлены в *таблице 1*.

В результате проведенных исследований установлено, что растворы с критическими значениями pH не изменяют своих физико-химических характеристик, таких как прозрачность, цветность, количественное содержание действующего вещества, отсутствие механических включений в растворе. При этом наблюдается тенденция к некоторому повышению pH растворов в полиэтиленовых ампулах после стерилизации.

Выводы

При приготовлении раствора необходимо контролировать уровень pH, который должен быть ниже предполагаемого верхнего предела 9,0, чтобы при хранении его уровень не превысил установленные в НТД нормы.

Так как препарат предполагается вводить внутривенно, наиболее приемлемым является уровень pH, близкий pH крови (около 7,4). Поэтому нижний предел уровня pH для препарата 7,0 является приемлемым как с химической, так и с физиологической точки зрения.

На основе полученных результатов и изучения данных научной литературы для препарата «Милдрокард, раствор для инъекций» установлены пределы pH 7,0–9,0.

Список литературы

1. Эффективность использования препарата метаболитического действия Милдронат в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности с сохраненной систолической функцией у больных с ишемической болезнью сердца и ее влияние на функциональное состояние эндотелия сосудов, уровень инсулина и кортизола / А.В. Курята, В.П. Гейченко, Л.М. Мужчиль, И.Л. Караванская // *Ліки України*. – 2011. – №4. – С. 107–112.
2. Недошивин А.О. Миокардиальный цитопротектор милдронат в терапии ИБС / А.О. Недошивин // *Гриндекс ваш надежный партнер*. – 2005. – №2. – С. 7.
3. Гейченко В.П. Возможности использования метаболитического корректора Милдроната в комплексном лечении хронической сердечной недостаточности с сохраненной систолической функцией / Гейченко В.П., Курята А.В., Мужчиль О.В. // *Медицина неотложных состояний*. – 2007. – Т. 8, №1. – С. 73–78.
4. Чекман И.С. Кардиопротекторы – клинико-фармакологические аспекты / Чекман И.С., Горчакова Н.А., Французова С.Б. и др. // *Український медичний часопис*. – 2005. – №6. – С. 18–25.
5. Нетяженко В.З. Выбор метаболитической терапии при лечении больных с ишемической болезнью сердца / Нетяженко В.З., Мальчевская Т.И., Мишанич Г.И. и др. // *Новости медицины и фармации*. – 2010. – №7. – С. 8.
6. Лишневская В.Ю. Метаболическая терапия у пациентов старшего возраста с ИБС / Лишневская В.Ю. // *Кровообіг та гемостаз*. – 2006. – №1. – С. 54–58.
7. Государственная фармакопея СССР – XI изд. – М.: Медицина, 1990. – 397 с.
8. *British Pharmacopoeia*. – V. 1, 2. – 2001. – 2639 p.
9. *The United States Pharmacopoeia / The National Formulary/ USP 30/NF 25*. – Rockville: United States Pharmacopoeial Convention Inc., 2007. – 3553 p.
10. *European Pharmacopoeia*. – 6th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2008. – V. 1 – 1084 p.
11. Державна Фармакопея України / Держ. підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: ООО PIPEГ, 2001. – 531 с.
12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., Дополнения 1. – Харків: Видавнича група «PIPEГ», 2004. – 494 с.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство

- «Научно-экспертный фармакопейный центр». – 1-е вид., Дополнения 2. – Харків, 2008. – 620 с.
14. Яновская Л.А. Аммониевые соединения. Органический синтез в двухфазных системах / Яновская Л.А., Юфит С.С. – М., 1982. – 235 с.
15. Пат. 2114822 RU, МПК C07C243/40. Способ получения дигидрата 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата / Лопырев В.А. (RU), Комаров В.Г. (RU), Воронков М.Г. (RU) и др.; заявитель и патентообладатель Иркутский институт органической химии СО РАН; Российский государственный медицинский университет; Товарищество с ограниченной ответственностью Научно-производственное объединение «Искра» (RU). – № 95118258/04; заявл. 27.11.1998; опубл. 10.07.1998. – 10 с.
16. Дядык А.И. Хроническая сердечная недостаточность в современной клинической практике / Дядык А.И., Багрий А.Э. – Донецк: Изд-во «Регион», 2005. – 552 с.
-

Сведения об авторах:

Шевченко В.А., к. фарм. н., доцент каф. технологии и безопасности лекарств, Институт повышения квалификации специалистов фармации, НФаУ.

Бондарь В.С., д. фарм. н., профессор каф. токсикологической химии НФаУ.

Губченко Т.Д., к. фарм. н., доцент каф. технологии и безопасности лекарств, Институт повышения квалификации специалистов фармации, НФаУ.

Надійшла в редакцію 18.04.2012 р.



Т.С. Британова, А.В. Самко

Товарознавча характеристика мінеральних вод України

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: мінеральні води, показники якості.

Ключевые слова: минеральные воды, показатели качества.

Key words: mineral waters, quality markers.

Мінеральні води, природні або штучні, містять підвищену кількість мінеральних чи органічних речовин, мають специфічні фізико-хімічні властивості та використовуються з лікувально-профілактичною метою. Наявність біологічно активних речовин у водах визначає напрям їх використання при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, нирок, печінки, серцево-судинної та нервової систем, порушенні обміну речовин тощо. Лікувальний ефект залежить від правильності вибору води, правил її використання (доза, періодичність, зв'язок із вживанням їжі), температури тощо.

Минеральные воды, природные или искусственные, содержат повышенное количество минеральных или органических веществ, имеют специфические физико-химические свойства и используются с лечебно-профилактической целью. Наличие биологически активных веществ в водах определяет направление их применения при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, почек, печени, сердечно-сосудистой и нервной систем, нарушении обмена веществ. Лечебный эффект зависит от правильности выбора воды, правил ее использования (доза, периодичность, связь с приемом пищи), температуры и т. д.

Mineral waters – are natural or artificial waters, which contain increased amount of mineral or organic substances, have specific physico-chemical properties and use in medical or health preventive purposes. Presence of BAS in waters determines their usage by many diseases of gastrointestinal tract, kidney, liver, cardiovascular and nervous systems, under metabolic disorders. The therapeutic effect depends on the correct choice of water, the rules of usage (dose, frequency, relationship with food), temperature etc.

Мінеральними називають води, що вільно виліваються або видобуваються із земних надр і проявляють свій лікувальний і тонізуючий ефект при внутрішньому або зовнішньому застосуванні. Мінеральні води – один із найважливіших природних ресурсів України. За рекреаційним потенціалом місця зосередження мінеральних вод не мають рівних серед інших природних багатств, а історія їх ефективного використання нараховує сторіччя. Мінеральними можуть бути не тільки підземні, але й поверхневі води (ріки, озера, ставки тощо).

Мета роботи

Характеристика асортименту мінеральних вод, класифікація та лікувально-профілактичне застосування залежно від хімічного складу.

Матеріали і методи дослідження

Мінеральні води відрізняються від питної води підвищеним вмістом мінеральних речовин та іншими властивостями. В них одні речовини містяться у вигляді не дисоційованих молекул, інші – у вигляді іонів і можуть містити колоїдні частинки.

Мінеральні води надходять з природних джерел і містять різноманітні корисні гази та солі. Вони б'ють із землі, часто мають високу температуру. Після виявлення підземних запасів мінеральної води за допомогою бурових свердловин, глибина яких може сягати декількох кілометрів, з надр виводять мінеральні води, що мають лікувальне значення.

Не тільки під землею, але й на поверхні виявляють мінеральні води, що характеризуються високим вмістом біологічно активних компонентів.

Використання мінеральних вод у якості внутрішнього чи зовнішнього лікувального засобу визначають на основі фізико-хімічних властивостей.

Класифікація мінеральних вод

1. За походженням їх поділяють на природні та штучні.

Природна мінеральна вода має такі обов'язкові характеристики:

- добувається лише з природних джерел, підземних родовищ;
- не зазнає жодної технологічної обробки;
- має постійний хімічний склад і сталу температуру;
- розливається поблизу місця видобутку.

Природна мінеральна вода є найціннішою, адже поєднує складний комплекс мінералів, макро- і мікроелементів, що позитивно впливають на людський організм. У різних народів існує безліч легенд і міфів про чудодійну дію мінеральних джерел, вода з яких повертає здоров'я й силу, молодість і красу.

Навіть в екологічно чистих районах рідко зустрічається природна вода, придатна для повсякденного вживання, яку можна бутілювати.

Штучні води можна виробляти будь-де, наприклад, поблизу мегаполісів і навіть у промислових зонах. Це й не дивно, оскільки підготовлені води можуть:

- походити як з підземних, так і поверхневих водних ресурсів;
- зазнавати демінералізації або штучної мінералізації, зворотного осмосу, хімічної очистки, ультрафіолетового опромінення тощо.

2. За рівнем мінералізації визначають столові, лікувально-столові та лікувальні води. Рівень мінералізації залежить від кількості розчинених мінеральних солей:

– столові (вміст солей до 1 г/дм³) мають низький рівень мінералізації, їх можна вживати без обмежень;

– лікувально-столові (1–10 г/дм³) через високий рівень мінералізації мають відчутний присмак і застосовуються у якості лікувальних і профілактичних засобів за призначенням лікаря;

– лікувальні (10–35 г/дм³) використовують тільки під наглядом лікаря.

3. *За ступенем газациї* – газовані та негазовані.

За наявністю карбон діоксиду мінеральні води поділяють на сильно-, слабко- та негазовані.

Газация впливає переважно на смак продукту. Карбон діоксид є природним консервантом, тому сприяє тривалому зберіганню навіть неякісної води.

4. *За хімічним складом* – хлоридні, гідрокарбонатні, сульфатні, натрієві та інші групи.

Залежно від аніону, що переважає, за хімічним складом мінеральні води поділяють на три класи:

- гідрокарбонатні (карбонатні);
- сульфатні;
- хлоридні.

У свою чергу ці класи за переважаючим катіоном поділяють ще на три групи:

- кальцієві;
- магнієві;
- натрієві.

5. *За температурою* води при виході з джерела поділяють на:

- дуже холодні (0–4°C);
- холодні (до 20°C);
- теплі (20–35°C);
- гарячі (35–42°C);
- дуже гарячі (понад 42°C).

6. *За реакцією середовища (рН):*

- кислі;
- нейтральні;
- лужні [4,5,7,8].

Видобуток води зі свердловин

Спочатку воду очищають від домішок і фільтрують через керамічні фільтри. Усі операції проводять відповідно до діючих технологічних інструкцій та санітарно-гігієнічних вимог, що мають сертифікат відповідності. Важливо знати, що стандарт вимагає прозорості мінеральної води, але можливий невеликий осад мінеральних солей. Смак і запах мають бути характерними для комплексу мінеральних часток і газів, що знаходяться у воді.

Обмеження кількості деяких хімічних речовин

У мінеральних водах обмежується вміст амонію – не більше 2 мг/л (для води Боржомі – до 5 мг/л), нітритів – 2, нітратів – 50, хрому – 0,5, урану – 0,5, ванадію – 0,4, плумбуму – 0,3, селену – 0,05, радію – 5–10, фенолів – 0,001. У лікувальних водах не допускається вміст арсену більше 3 мг/л, у лікувально-столових – 1,5 мг/л. Вміст фтору в лікувальних водах має складати не більше 8 мг/л, у лікувально-столових – 5 мг/л (для Боржомі – до 8 мг/л).

Насичення карбон діоксидом

Природні мінеральні води перед розливом у пляшки насичують карбон діоксидом. Масова частка карбон діоксиду в мінеральних водах має бути не менше 0,3%. Столові води випускають і негазованими.

Вимоги до мінеральних вод відповідно до міжнародних стандартів:

1. Вода має походити з природного джерела, захищеного від будь-якого забруднення, а розливати її у пляшки необхідно на відстані не більше 50 метрів від джерела.

2. Вода повинна бути природної чистоти, неприпустиме використання будь-яких методів, що можуть змінити її початкові, природні властивості.

3. Для очищення від механічних домішок можна використати фільтри. У деяких випадках допустиме вилучення певних небажаних речовин (сполуки феруму або сульфурі).

4. Якщо вода походить із джерела, насиченого карбон діоксидом, то його можуть частково або повністю видалити, оскільки впливає на характерні властивості мінеральної води.

5. Вміст нітрату не має перевищувати 30 мг в одному літрі. Верхніх і нижніх меж для вмісту мінеральних речовин немає [3].

Оцінка якості мінеральних вод

За органолептичними показниками якості природні та штучні мінеральні води мають бути прозорими, безбарвними, мати смак і запах, характерний для вмісту розчинених солей, відповідати санітарно-бактеріологічним вимогам. Під час зберігання допускається незначне випадіння осаду мінеральних солей. При визначенні якості мінеральних вод експрес-методом або ваговим методом визначають загальну мінералізацію. До основних факторів, що формують якість, належить сировина: питна вода та мінеральні збагачуючі добавки, а також рецептура [1].

Мікробіологічні вимоги до якості мінеральних вод

У процесі реалізації природна мінеральна вода має бути такої якості, щоб не становити небезпеки для здоров'я споживачів (не має бути патогенних мікроорганізмів), а також вона має відповідати наступним мікробіологічним специфікаціям за якістю. Дані наведено в таблиці 1 і 2.

Таблиця 1

Мікробіологічні показники якості мінеральних вод

Перше дослідження		Висновок
<i>E. coli</i> або термостійкі коліподібні бактерії	1 × 250 мл	Не має бути в жодному пробному зразку
Усі коліподібні бактерії	1 × 250 мл	Якщо ≥1 або ≤ 2
Фекальні <i>Streptococci</i>	1 × 250 мл	Проводиться друге дослідження
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 × 250 мл	Якщо > 2
Сульфит-редуючі анаероби	1 × 50 мл	Визнається непридатним

Таблиця 2

Друге дослідження				
	n	c ⁵	m	M
Усі коліподібні бактерії	4	1	0	2
Фекальні <i>Streptococci</i>	4	1	0	2
Сульфит-редуючі анаероби	4	1	0	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	1	0	2

Примітки: n – кількість взятих з партії проб, що мають бути досліджені за цим планом вибіркового контролю; c – максимально прийнятна, або максимально допустима кількість проб, що може перевищувати мікробіологічний критерій m; m – максимальна кількість, або максимальний рівень бактерій на 1 грам; M – кількість, що використовується для визначення якості продуктів.

Друге дослідження проводиться з використанням тих же об'єктів, що і перше [9].

Розлив

Мінеральну воду розливають у пляшки і закупорюють. Потім їх перевіряють на відповідність готового продукту всім вимогам. Зразки води перевіряються на якість і свіжість (органолептичні показники), на мікробіологічну й радіологічну безпечність, дають оцінку нешкідливості хімічного складу та фізіологічної повноцінності макро- і мікроелементного складу. Слід зазначити, що, на жаль, не завжди мінеральна вода, що надходить у продаж, відповідає санітарним вимогам.

Пакування та маркування

Питну воду фасують у тару місткістю не більше 11,0 дм³, зокрема:

- скляні пляшки (згідно з ДСТУ ГОСТ 10117.1) та інші скляні пляшки, скляні банки;
- посуд одноразового використання (пляшки ПЕТ(Ф)), сифони з полімерних матеріалів вітчизняного чи імпортного виробництва, металеві банки, пакети з полімерних і змішаних (полімерно-картонних) матеріалів;
- посуд багаторазового використання, що має висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи щодо безпеки, з урахуванням максимальних строків зберігання продукції.

За умовами договору з замовником дозволено фасувати питну воду у тару місткістю до 20,0 дм³.

Мінеральні води, насичені діоксидом карбону, фасують:

- природні столові та природні лікувально-столові води – у скляні пляшки (згідно з ДСТУ ГОСТ 10117.1) та інші скляні пляшки різної місткості, тару ПЕТ(Ф) та інші види тари місткістю до 11,0 дм³ згідно з чинними нормативними документами та дозволу Центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України у кожному конкретному випадку;

– природні лікувальні води – у скляні пляшки типу X, тару ПЕТ(Ф) місткістю від 0,33 до 2,5 дм³, а залістисті та слабкомінералізовані води з підвищеним вмістом орга-

нічних речовин у тару місткістю не більше 1,5 дм³ згідно з чинними нормативними документами та дозволом Центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України у кожному конкретному випадку;

– негазовані мінеральні води фасують у скляні пляшки та банки місткістю до 3,0 дм³, пакування Тетра-Пак місткістю 0,1–1,0 дм³, у тару ПЕТ(Ф) та інші види тари місткістю до 11,0 дм³ і згідно з чинними нормативними документами та дозволом Центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я України у кожному конкретному випадку. На етикетці вказують найменування підприємства-виробника, його товарний знак, назву води, її групу, номер свердловини, назву джерела, мінералізацію, призначення води, показання до лікувального застосування, рекомендації для зберігання, дату розливу, термін зберігання, номер стандарту [1,2].

Згідно з чинними нормативними документами, кожна одиницю тари з водою маркують етикетками, що містять викладену державною мовою інформацію щодо:

- назви фасованої води;
- місткості;
- характеристик якості (загальної мінералізації або сухого залишку, г/дм³, загальної твердості, моль/м³ та вмісту фтору, г/дм³). При штучному фторуванні зазначають: «Штучно фторована питна вода». Вміст йоду (природний/ штучний), якщо його вміст у воді становить більше 50 мкг/дм³;
- ступеня насиченості фасованої води карбон діоксидом (негазована, слабогазована, середньогазована, сильногазована);
- кінцевої дати споживання («Вжити до») або дати фасування та терміну придатності до споживання (число, місяць, рік);
- стану води за ступенем насиченості карбон діоксидом (негазована, слабогазована, сильногазована), за походженням карбон діоксиду (природно газована, штучно газована);
- походження (мінеральна природна, мінеральна розведена);
- застосування води (столова, лікувально-столова, лікувальна);
- рекомендацій щодо лікувального застосування з приміткою для лікувально-столових вод: «Застосовуються як лікувальні за призначенням лікаря і як столові напої при несистематичному вживанні протягом не більше 30 днів з інтервалом 3–6 місяців»; для лікувальних вод: «Використовуються тільки з лікувальною метою за призначенням лікаря відповідно до медичних показань»;
- основних протипоказань (для лікувально-столових і лікувальних вод);
- номера партії (номером партії вважати дату фасування);
- умов зберігання;
- назви, повної адреси і телефону виробника, адреси потужностей (об'єкта) виробництва.

На етикетці середньогазованої та сильногазованої води зазначають: «Не рекомендується для дітей і хворих» [1–3].

Додаткові вимоги до маркування

Кількісний склад продукту має бути зазначений на етикетці.

Якщо продукт містить більше 1 мг/л солей фтору, на етикетці має бути позначка «містить фториди» (як частина назви або поряд з нею, або напис, що іншим способом виділяється). Крім того, якщо продукт містить більше 2 мг/л фторидів, у маркування необхідно включити попереджувальний напис: «Продукт не придатний для немовлят і дітей віком до семи років».

Якщо природну мінеральну воду піддавали обробці, її результат має бути зазначений на етикетці [1–3].

Заборони при маркуванні

Не може бути жодних написів з приводу медичних ефектів (профілактичних, полегшуючих або лікувальних) від вживання продукту, що відповідають вимогам цього стандарту. Не має бути заяв з приводу інших корисних ефектів на здоров'я споживача, якщо вони невірогідні і можуть ввести споживача в оману.

Географічна назва місцевості, селища або певного пункту не має входити до складу торгового найменування, якщо воно не належить до природної мінеральної води, що добувається у тому місці, яке зазначене у конкретному торговому найменуванні.

Забороняється використовувати будь-які вказівки або зображення, що можуть ввести споживачів в оману відносно природи, походження, складу і властивостей природної мінеральної води.

Умови та термін зберігання і транспортування

Мінеральні води зберігають у спеціальних провітрюваних темних приміщеннях за температури 5–20°C, оберігають від вологи. Щоб уникнути витоку карбон діоксиду, пляшки з водою, закупорені пробками, зберігають у горизонтальному положенні.

Фасовану питну воду зберігають у спеціальних затемнених, чистих, сухих, добре вентилятих складських приміщеннях за температури від 5 до 10°C і відносній вологості повітря не більше 75%. Складають і зберігають продукцію у штабелях. Висота штабеля має бути не більше 3 м, відстань від нагрівальних приладів до штабеля – не менше одного метра.

Кількість рядів пакетів, сформованих зі споживчої тари з водою, під час зберігання не має перевищувати:

- 1) для скляних пляшок місткістю до 0,5 дм³ включно – 8 рядів;
- 2) для пляшок ПЕТ(Ф) і емностей із полімерних матеріалів:
 - місткістю до 0,5 дм³ включно – 6 рядів;
 - місткістю понад 0,5 дм³ до 1,0 дм³ включно – 5 рядів;
 - місткістю понад 1,0 дм³ до 3,0 дм³ включно – 4 ряди;
 - місткістю понад 3,0 дм³ до 11,0 дм³ включно – 2 ряди.

Гарантійний термін зберігання мінеральних вод становить до 12 місяців від дня розливу, залістистих – 4 місяці. При транспортуванні мінеральної води у скляних пляшках внаслідок необережного поводження з такою крихкою тарою можуть виникнути втрати, для запобігання яким пляшки перевозять у ящиках зі спеціальними комірками. У такому випадку пляшки не стикаються й не б'ються [1–3].

Лікувальна дія мінеральних вод

Мінеральні води покращують мікроциркуляцію крові у кишечнику, печінці, стимулюють виділення гастрину, жовчі, а також панкреатичну секрецію. Їх застосування зменшує тканинну гіпоксію.

Гідрокарбонатні (лужні) води застосовуються у випадках, коли необхідно врегулювати кислотність і секрецію шлункового соку, а також сечі.

Дія мінеральних вод зменшує спазм приворотника, сприяє видаленню слизу з дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту, одночасно збільшуючи секрецію ферментів підшлункової залози і жовчі. Лікування мінеральною водою зменшує ацидоз, при цьому оптимізується обмін пуринів. Одночасно відзначають зниження підвищеної концентрації ліпідів у крові, підвищення толерантності до вуглеводів («Лужанська», «Свалєва», «Поляна Квасова»).

Хлоридні води містять аніони хлору і катіони натрію, належать до солоних, але переважно слабкомінералізованих вод. При їх прийомі посилюється секреція шлункового соку, збільшується кількість хлороводневої кислоти. Ці води також мають жовчогінну та послаблюючу дію і затримують воду в організмі, містять кальцій, якому властива протизапальна дія.

Сульфатні води містять катіони натрію та сульфат-аніони. Вони знижують шлункову секрецію, майже не всмоктуються у кишечнику, «втягують» надлишкову рідину з тканин, покращують панкреатичну секрецію, мають жовчогінну та послаблюючу дію, оптимізують обмін білків, жирів, вуглеводів, усувають метеоризм.

Мінеральні води, що містять арсен, сприяють процесам кровотворення, а також мають позитивний вплив на стан печінки.

Йодні води застосовують для лікування хвороб щитоподібної залози, атеросклерозу. Вони здатні активувати окисно-відновні процеси.

Бромні води мають седативну дію, сприяють процесам гальмування в центральній нервовій системі.

Кремнієві води мають антитоксичний та антисептичний вплив на шлунок, здатні покращувати стан слизової оболонки, виводити сечову кислоту, сприяють підвищенню пружності шкіри, допомагають при шкірних, шлунково-кишкових захворюваннях, хворобах жовчного міхура та печінки. Крім того, кремнієві води можуть позитивно впливати на організм при хронічних інтоксикаціях важкими металами, карієсі, гінгівітах, атеросклерозі.

Фтористим водам властивий оздоровчий вплив на процеси обміну фосфатів, вони активно діють на побудову і ріст тканин зубів, нігтів, кісток. Вміст фтору зумовлює стабілізуючий вплив на сечову кислоту, запобігає утворенню піску та каменів. Фтористі води рекомендовано вживати при карієсі, остеопорозі, хронічному гінгівіті та парадонтиті. Вони допомагають при сечокам'яній хворобі та повільному утворенні кісткових мозолів [7].

Висновки

Враховуючи повсякденне застосування мінеральних вод серед населення України, значної уваги заслуговують

її показники якості: умови та місцевість видобування, особливості розливу, пакування, маркування і зберігання розлитої у тару води. Лікувальні мінеральні води слід застосовувати з обережністю і за призначенням лікаря. Також необхідно зазначити, що не всі мінеральні води видобуваються з природних джерел, окремі створюють штучно, а їх застосування не завжди дає очікуваний результат. Отже, ретельний аналіз дозволить контролювати якість усіх мінеральних вод, що знаходяться на ринку України.

Список літератури

1. Державні санітарні норми і правила «Вода питна фасована. Гігієнічні вимоги та контроль за якістю». – МОЗ України, 2004.
2. «Води мінеральні питні. Технічні умови», ДСТУ 878-93.
3. «Води мінеральні природні фасовані» – ДСТУ (Проект, остаточна редакція) – Держспоживстандарт України, 2006.
4. *Іванов В.В.* Классификация подземных минеральных вод / В.В. Иванов, Г.А. Невраев. – М.: Недра, 1964. – 168 с.
5. *Куликов Г.В.* Минеральные лечебные воды СССР: Справочник / Куликов Г.В., Жевлаков А.В., Бондаренко С.С. – М.: Недра, 1990. – 219 с.
6. Товарознавство смакових товарів / [Дубиніна А.А., Жук Ю.Т., Жук В.А., Жестерова Н.А.]. – К., 2004. – 235 с.
7. Проблеми класифікації мінеральних вод України і перспективи виявлення їх різноманітності / [Шестопапов В.М., Негода Г.М., Набока М.В., Овчиннікова Н.Б.] // Збірник наукових праць. – К., 2005. – 458 с.
8. *Шестопапов В.М.* Новая классификация минеральных вод в Украине / Шестопапов В.М., Овчинникова Н. Б. // Природніліки. – 2003. – №11.
9. Наказ МОЗ України від 2 червня 2003 року №243 «Про затвердження порядку здійснення медико-біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів, визначення методів їх використання».

Відомості про авторів:

Британова Т.С., асистент каф. УЕФ, медичного та фармацевтичного товарознавства ЗДМУ.
Самко А.В., ст. викладач каф. УЕФ, медичного та фармацевтичного товарознавства ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 05.06.2012 р.



Н.І. Коваль¹, І.М. Кліщ²

Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів, що містять пірацетам, представлених на українському та російському фармацевтичних ринках

¹Державна служба з лікарських засобів у Вінницькій області,

²Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Ключові слова: пірацетам, фармацевтичний ринок, маркетингові дослідження.

Ключевые слова: пирацетам, фармацевтический рынок, маркетинговые исследования.

Key words: piracetam, pharmaceutical market, marketing researches.

Здійснено дослідження препаратів, що містять пірацетам, на фармацевтичному ринку України та Росії. Наведено порівняльний аналіз препаратів за характеристиками: країна-виробник, підприємство-постачальник, форма випуску, комбінації пірацетаму з іншими лікарськими засобами. Обґрунтовано доцільність розширення вітчизняного ринку пірацетамвмісних препаратів шляхом створення українськими виробниками нових ліків на основі пірацетаму.

Проведено исследование препаратов, включающих пирацетам, на фармацевтическом рынке Украины та России. Представлен сравнительный анализ препаратов по характеристикам: страна-производитель, предприятие-поставщик, лекарственная форма, комбинации пирацетама с другими лекарственными средствами. Доказана потребность в расширении отечественного рынка пирацетамсодержащих препаратов путем создания украинскими производителями новых лекарств на основе пирацетама.

The research of medicines which contain piracetam on the pharmaceutical market of Ukraine and Russia were described in this article. The comparative analysis of medications by the following characteristics: country-manufacturer, the company-provider, pharmaceutical form, piracetam in combination with other drugs was conducted. Expediency of expanding of home market in medicinal products through development of new preparations based on piracetam by the Ukrainian producers was proved.

Пірацетам – ноотропний лікарський засіб, історично перший (1972) і до сьогодні основний представник цієї групи препаратів [1,5].

У більшості країн світу, включаючи США і країни Західної Європи, пірацетам та інші ноотропи не зареєстровані в якості лікарських препаратів, оскільки їх ефективність не доведено в контрольованих дослідженнях [4,6]. Незважаючи на це, в Україні, Росії та деяких інших країнах пірацетам широко застосовують у клінічній практиці для лікування безлічі неврологічних і психіатричних захворювань. Значна кількість публікацій свідчать про широке застосування пірацетаму не тільки в неврології, але й в інших галузях медицини [3,7].

Мета роботи

Виконати порівняльний аналіз зареєстрованих препаратів, що містять пірацетам, на фармацевтичних ринках України та Росії.

Матеріали і методи дослідження

Аналіз асортименту препаратів проводили згідно з Державним реєстром лікарських засобів України та Державним реєстром лікарських засобів Російської Федерації. Об'єктом дослідження були препарати, що містять пірацетам. Як інформаційні джерела використовували Довідник лікарських засобів України станом на 01.03.2012 [2] та Державний реєстр лікарських засобів Росії [8].

Результати та їх обговорення

Протягом дослідження вивчено фармацевтичний ринок препаратів України та Росії, що містять піраце-

там. Встановлено, що станом на 1 лютого 2012 року в Україні зареєстровано 40 найменувань препаратів, що містять пірацетам. Серед них 22 (55%) лікарських засоби вітчизняного виробництва, решта 18 – закордонного (45%). Основними країнами-імпортерами цих препаратів є фармацевтичні фірми Угорщини (ВАТ Фармацевтичний завод ЕГІС), Латвії (АТ «Олайнфарм»), Бельгії (ЮСБ Фарма С.А.), Польщі (Біофарма Лтд), Росії (ВАТ «Валента Фармацевтика», ВАТ «Нижфарм»), Італії (ЮСБ Фарма С.П.А.), Франції (НекстФарма САС), Болгарії (Балканфарма-Дупниця АТ) (рис.1).

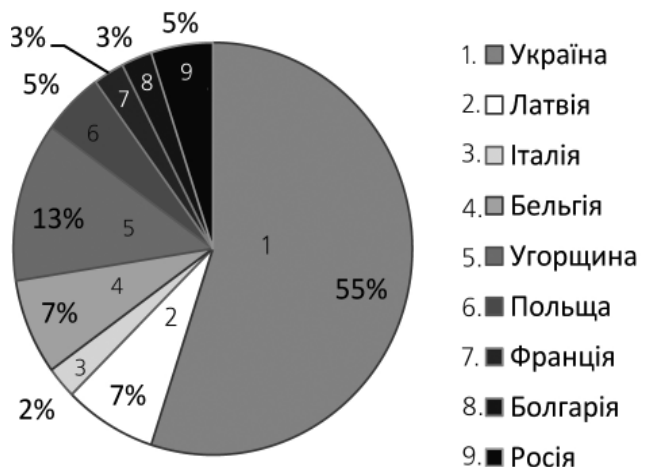


Рис. 1. Аналіз фармацевтичного ринку України пірацетамвмісних препаратів за країнами-виробниками.

При аналізі російського фармацевтичного ринку встановлено, що станом на 1 лютого 2012 року зареєстровано 69 препаратів. Більшість цих лікарських засобів виробляє Росія (76%), інша частина імпортується (24%). За кордонні препарати, що містять пірацетам, на територію Росії постачають 7 країн, лідерами є Білорусія та Бельгія (по 6%). Найменш репрезентованими є виробники Індії, Швейцарії та Болгарії, що постачають по 1% від загального асортименту препаратів (рис. 2).

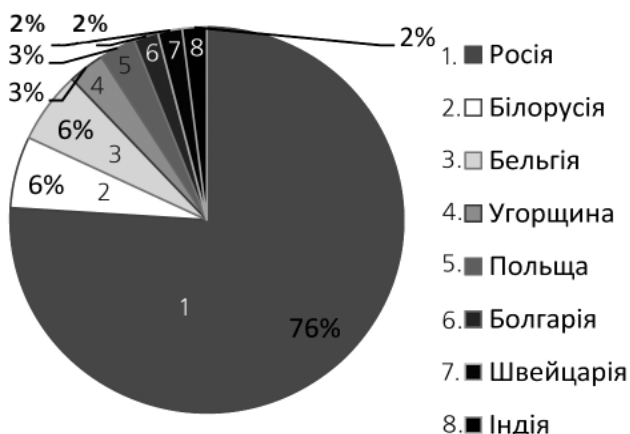


Рис. 2. Аналіз фармацевтичного ринку Росії пірацетамвмісних препаратів за країнами-виробниками.

Наступний етап дослідження – аналіз номенклатури вітчизняних підприємств-постачальників фармацевтичної продукції (рис. 3). Аналіз показав, що серед 11 фірм-виробників, що забезпечують український фармацевтичний ринок пірацетамвмісними препаратами, суттєве місце посідають АТ «Галичфарм» (4 найменування); ВАТ «Фармак», ЗАТ «ФФ «Дарниця» та ТОВ «ФК «Здоров'я» (по 3 препарати); ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» і ВАТ «Київмедпрепарат» (по 2 позиції); ТОВ «Фарма Стар», ПАТ «Фітофарм», ТОВ «Ніко», ТОВ «Фармекс Груп» та ОВХФП «Біостимулятор» (по 1 найменуванню).

Ринки лікарських засобів, що містять пірацетам і представлені на фармацевтичних ринках України та Росії, демонструють подібність за лікарськими формами (таблетки, капсули, розчини для ін'єкцій та розчини для орального застосування (рис. 4)).

Наступний крок – аналіз препаратів пірацетаму та його комбінацій з іншими лікарськими засобами (рис. 5). На досліджуваних фармацевтичних ринках пірацетам представлений найчастіше як монопрепарат (Україна – 75,2%, Росія – 88% від загальної кількості зареєстрованих препаратів).

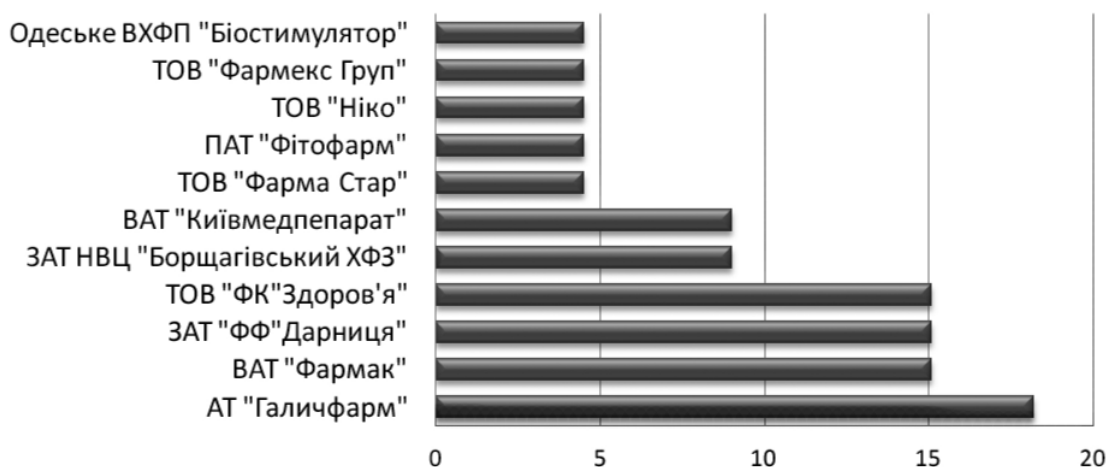


Рис. 3. Рейтинг вітчизняних виробників за кількістю пропозицій пірацетамвмісних лікарських препаратів, %.

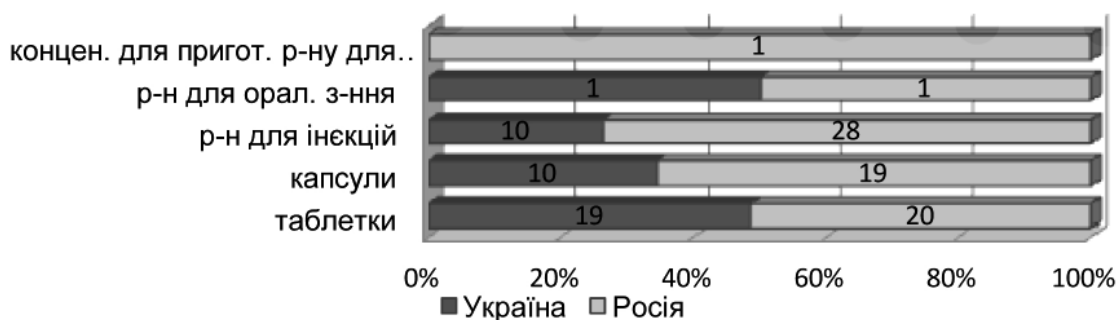


Рис. 4. Співвідношення окремих лікарських форм препаратів, що містять пірацетам, на українському та російському фармацевтичних ринках.

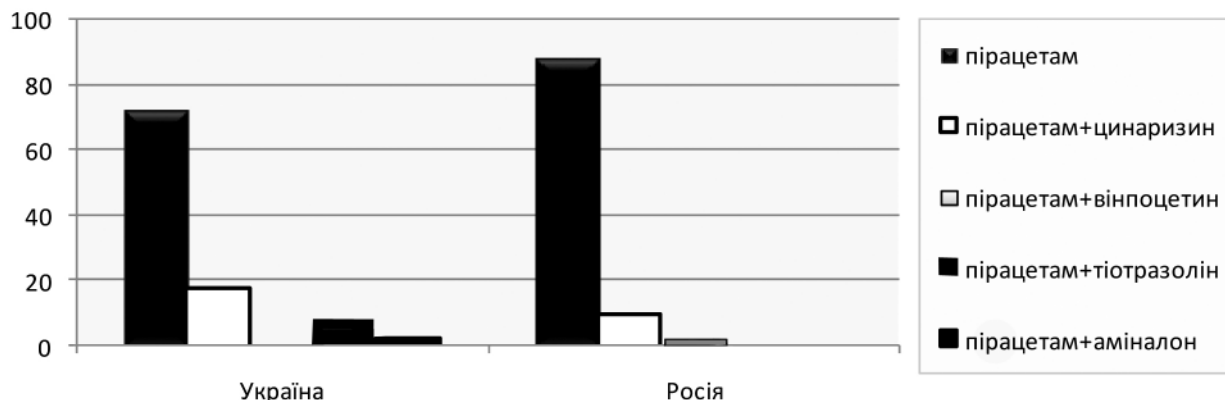


Рис. 5. Аналіз ринку пірацетамвмісних лікарських засобів за складом діючих речовин.

Найбільш поширеною комбінацією на обох ринках є комбінація пірацетам + цинаризин. Також в Україні зареєстровані препарати, до складу яких входять такі комбінації, як пірацетам + тіотразолін і пірацетам + аміналон, чого немає на російському фармацевтичному ринку. В свою чергу, в Росії зареєстровано комбінацію пірацетам + вінпоцетин, що не представлена на території України. Здійснені дослідження дозволяють визначити

основні напрямки удосконалення асортименту препаратів, що містять пірацетам у комбінації з іншими лікарськими засобами.

Висновки

1. Вивчено український і російський фармацевтичний ринок препаратів, що містять пірацетам.
2. Обґрунтовано доцільність створення вітчизняних пірацетамвмісних препаратів.

Список літератури

1. Бурчинский С. Г. Пирцетам: новые открытия, новые возможности / С.Г. Бурчинский // Аптека. – 2004. – №37 (458).
2. Довідник лікарських засобів України 2012 [Електронний ресурс]: за даними Держ. Експертного Центру / МОЗ України, 2012. – Режим доступу: http://www.pharma-center.kiev.ua/view/dov_lik_zas
3. Кметь О.Г. Вплив пірацетау на стан ферментів антиоксидантного захисту печінки за умов гострої гіпоксії / О.Г. Кметь, Н.Д. Філіпець, Т.І. Кметь // Буковинський медичний вісник. – 2008. – Т. 12, №3. – С. 70–72.
4. Лелека М. В. Аналіз сегмента ноотропних препаратів і обґрунтування доцільності створення нових лікарських засобів на основі пірацетау та кислоти бурштинової / М.В. Лелека, О.М. Заліська // Фармацевтичний часопис. – 2012. – №1. – С. 87–91.
5. Путилина М.В. Современные представления о ноотропных препаратах / М.В. Путилина // Лечащий врач: Журнал для практикующего врача. – 2006. – №5. – С. 10–14.
6. Flicker L. Piracetam for dementia or cognitive impairment / Flicker L., Grimley Evans J. // Cochrane Database of Systematic Reviews – 2001. – Issue 2.
7. Clinical efficacy of piracetam in cognitive impairment: a meta-analysis / T. Waegemans, C. R. Wilsher, A. Danniau [et al.] // Dement. Geriatr. Cogn. Disord. – 2002. – №13. – P. 217–224.
8. <http://grls.rosminzdrav.ru/>

Відомості про авторів:

Коваль Н.І., провідний фахівець лабораторії з контролю якості лікарських засобів Державної служби з лікарських засобів у Вінницькій області.

Кліщ І.М., д. біол. н., професор, зав. каф. клініко-лабораторної діагностики ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

Надійшла в редакцію 03.07.2012 р.



Е.А. Дядык¹, М.А. Шишкин²

Морфологические особенности ишемического инфаркта мозга, развившегося у больных в условиях перитонита

¹Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,

²Запорожский государственный медицинский университет

Ключові слова: *інфаркт мозку, перитоніт.*

Ключевые слова: *инфаркт мозга, перитонит.*

Key words: *brain infarction, peritonitis.*

Наведено результати порівняльного морфологічного дослідження головного мозку хворих, які померли від ішемічного інфаркту мозку без супутньої гострої соматичної патології, та хворих, у яких ішемічний інфаркт мозку розвинувся на фоні фібринозно-гнійного перитоніту. Виявлено, що головною патоморфологічною відмінністю інфаркту мозку при перитоніті є наявність ознак гострої енцефалопатії метаболічного характеру, що виявляється розповсюдженими дистрофічними змінами нейронів, вогнищами селективного некрозу нервових клітин у різних відділах мозку, переважно перичелюлярним характером тканинного набряку.

Приведены результаты сравнительного морфологического исследования головного мозга у больных, умерших от ишемического инфаркта мозга без сопутствующей острой соматической патологии, и больных, у которых ишемический инфаркт мозга развился на фоне фибринозно-гнойного перитонита. Определено, что главным патоморфологическим отличием инфаркта мозга при перитоните является наличие признаков острой энцефалопатии метаболического характера, проявляющейся распространенными дистрофическими изменениями нейронов, очагами селективного некроза нервных клеток в разных отделах мозга, преимущественно перичелюлярным характером тканевого отека.

This work presents the results of a comparative morphological study of the brain in patients who died of ischemic brain infarction without concomitant acute somatic diseases and in patients who have ischemic cerebral infarction developed on the background of fibrin-purulent peritonitis. It was revealed that the main pathomorphological difference of cerebral infarction at peritonitis is signs of acute metabolic encephalopathy, manifesting by common dystrophic changes in neurons, focuses of nerve cells selective necrosis in different parts of brain, predominantly pericellular character of tissue edema.

Важное значение поражений центральной нервной системы в танатогенезе при перитоните отмечают многие авторы [1–3]. Описаны морфологические изменения, развивающиеся в головном мозге при этой патологии [4,5]. Они легли в основу клинко-анатомической концепции т. н. «перитонеальной энцефалопатии», предложенной В.В. Филатовым [6], которая характеризуется в основном сдвигами метаболического и токсического характера. Вместе с тем, как показывает клинко-патологоанатомическая практика, у больных перитонитом могут развиваться также приступы острого нарушения мозгового кровообращения, реализующиеся в ишемический инфаркт мозга и, соответственно, приобретающие решающую роль в танатогенезе. Морфологические особенности инфаркта мозга у больных перитонитом до настоящего времени не описаны.

Цель работы

С помощью нейроморфологических методик на секционном материале провести сравнительное изучение ишемического инфаркта головного мозга в случаях, когда он осложняет течение перитонита или выступает в качестве основного заболевания, не сопряженного с другой соматической патологией. Выявить основные морфологические особенности инфаркта мозга, развившегося у больных в условиях разлитого фибринозно-гнойного перитонита.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на двух группах секционных наблюдений. Первую группу составили 12 наблюдений умерших в хирургических клиниках больных, страдавших перитонитом различного генеза (прободная язва

желудка, острый панкреатит, острый холецистит), у которых течение перитонита осложнилось острым нарушением мозгового кровообращения (ишемическим инфарктом мозга) и летальным исходом на 2–4 сутки от момента его возникновения. Во всех случаях на вскрытии выявлен фибринозно-гнойный перитонит давностью 3–5 суток, по поводу которого проводилось оперативное вмешательство. Во вторую (группу сравнения) вошли 20 наблюдений ишемического инфаркта мозга атеросклеротического генеза давностью развития 2–5 суток, без сопутствующей острой соматической патологии; смерть больных наступила в специализированной сосудистоневрологической клинике. Морфологическое исследование мозга осуществляли по стандартной методике. Материал для гистологического исследования брали из очага формирующегося (или сформировавшегося) некроза, перифокальных участков, соответствующих им участков противоположного полушария, а также из других отделов коры, подкорковых ядер и ствола мозга. Срезы окрашивали по Нисслию, гематоксилином и эозином, в части случаев для селективного выявления астроглии, микроглии и олигодендроглии использованы импрегнационные методики Ортега и Кахала [7].

Результаты и их обсуждение

При макроскопическом исследовании магистральных экстра- и интракраниальных сосудов оказалось, что для группы умерших от инфаркта мозга, развившегося на фоне перитонита, характерно менее интенсивное атеросклеротическое поражение сонных и внутричерепных артерий с их стенозом на 50–70%, в то время как для инфарктов без соматической патологии правилом был

более выраженный атеросклеротический стеноз приводящих сосудов (на 70–85%). Это может свидетельствовать, что в условиях перитонита инфаркт мозга может развиваться при менее выраженной региональной гемодинамической недостаточности, чем без него. Макроскопическое исследование мозга показало, что, в отличие от группы сравнения, где ядро инфаркта, как правило, представлено одним крупным очагом формирующегося или сформировавшегося некроза, у больных разлитым перитонитом выявлялось несколько (2–4) меньших по размерам очагов, находящихся на одной и той же стадии некротического процесса и в пределах одного и того же сосудистого бассейна (правой или левой средней мозговой артерии). При примерно одинаковой выраженности макроскопических признаков отека-набухания мозга (повышенная влажность, дряблость нервной ткани, утолщение коркового вещества) у больных перитонитом заметно меньше выражены признаки субтенториального и затылочного вклинений вещества мозга в дуральные складки. При гистологическом исследовании обращают внимание существенные отличия в характере тканевого отека. У больных перитонитом преобладающим является перичеселлярный отек, проявляющийся резкими расширениями перичеселлярных пространств, прежде всего, вокруг нейронов и перинейрональных олигодендроцитов; расширения периваскулярных пространств выражены и распространены в значительно меньшей степени. В группе сравнения признаки перичеселлярного и периваскулярного отека выражены примерно одинаково, в части случаев с преобладанием периваскулярного, но не наоборот. Все наблюдения первой группы отличаются наличием распространенных во всех отделах полушарий большого мозга дистрофических изменений нейронов, преимущественно по типу острого набухания с увеличением ядер, просветлением кардиоцитоплазмы и различной степени выраженности хроматолизом. В большей части клеток наступает полная гомогенизация цитоплазмы. Кроме того, обнаруживаются множественные мелко мозаичные очаги явной гибели нейронов, осуществляющейся по типу цитолитического и образования клеток-теней. Такие изменения происходят как вблизи очагов полного некроза, так и далеко за его пределами, в том числе в противоположном полушарии. Характерно, что вокруг очагов некроза у больных перитонитом заметно меньше выражена микроглиальная реакция: клетки микроглии выявляются в меньшем количестве,

чем в группе сравнения, и имеют менее разветвленные и не столь утолщенные отростки, что свидетельствует о меньшей фагоцитарной активности. Напротив, появление мелких участков лейкодиapedеза в отдаленных зонах и вблизи зоны инфаркта намного более характерно для больных перитонитом, чем для умерших из группы сравнения, у которых они встречаются редко и только вблизи ядра инфаркта. Астроциты у больных перитонитом подвергаются менее распространенным деструктивным изменениям, чем у больных группы сравнения. Напротив, в отдаленных от очага инфаркта областях мозга чаще можно встретить тучные астроциты Ниссля, хорошо выявляющиеся не только при окраске по Ниссли, но и при окраске гематоксилином и эозином, что свидетельствует о повышении их метаболической и фагоцитарной активности.

Выводы

1. Главной отличительной морфологической особенностью инфаркта мозга, осложнившего течение разлитого перитонита, является наличие в различных отделах мозга морфологических проявлений «перитонеальной» энцефалопатии: распространенных дистрофических изменений нейронов по типу острого набухания, мелко мозаичных очагов гибели нейронов по типу цитолитического и образования клеток-теней.

2. Для инфаркта мозга, осложнившего течение разлитого перитонита, характерно образование нескольких небольших полушарных очагов некроза в бассейне одной и той же магистральной артерии.

2. Для инфаркта мозга, осложнившего течение разлитого перитонита, более характерны морфологические признаки цитотоксического отека нервной ткани с преимущественной локализацией в коре и других ганглиозно-клеточных образованиях, в то время как при инфарктах без фоновой соматической патологии преобладающими являются признаки вазогенного механизма отека, одинаково выраженные как в сером, так и в белом веществе.

3. Для инфаркта мозга, осложнившего течение разлитого перитонита, менее характерно распространенное разрушение астроцитов, более характерно формирование тучных астроцитов Ниссля.

4. Для инфаркта мозга, осложнившего течение разлитого перитонита, характерна менее выраженная, вялая реакция микроглии, но значительно более частыми являются признаки лейкоцитарной эмиграции в ткань мозга.

Список литературы

1. Ерюхин И.А. Эндотоксикоз в хирургической клинике / И.А. Ерюхин, Б.В. Шашков. – СПб.: Logos, 1995. – 304 с.
2. Белокуров Ю.Н. Эндогенные интоксикации при острых хирургических заболеваниях / [Ю.Н. Белокуров, В.В. Рыбачков, Г.А. Баранов и др.]. – Ярославль, 2000. – 140 с.
3. Мишнев О.Д. Эндотоксикоз в хирургической практике / [О.Д. Мишнев, А.И. Щёголев, О.А. Трусов, А.М. Свитнева] // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. – 2005. – №1. – С. 39–40.
4. Филатов В.В. Морфология и морфогенетические механизмы поражений головного мозга при остром разлитом перитоните / В.В. Филатов // Архив патологии. – 2003. – Т. 65, №4. – С. 55–58.
5. Писарев В.Б. Нейроморфология эндотоксикоза / В.Б. Писарев // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. – 2005. – №1. – С. 41.
6. Филатов В.В. Патологическая анатомия, патогенез и морфогенез повреждений головного мозга при остром разлитом перитоните: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук: спец. 14.00.15. «Патологическая анатомия» / В.В. Филатов. – М., 2006. – 34 с.
7. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.

Сведения об авторах:

Дядык Е.А., д. мед. н., профессор каф. патоморфологии ДонНМУ им. М.Горького,

Шишкин М.А., к. мед. н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Надійшла в редакцію 10.10.2012 р.



Л.О. Горяча, Т.С. Прокопенко

Використання модульно-рейтингової системи побудови навчального процесу при вивченні дисципліни «Організація і економіка фармації»

Коледж Національного фармацевтичного університету, м. Харків

Ключові слова:

модульно-рейтингова система, модуль, рейтинг, результати навчання.

Ключевые слова:

модульно-рейтинговая система, модуль, рейтинг, результаты обучения.

Key words: module-rating system, module, rating, the learning outcomes.

Висвітлено реалізацію основних принципів модульно-рейтингової системи організації навчального процесу при вивченні дисципліни «Організація і економіка фармації» молодшими спеціалістами фармації.

Освещена реализация основных принципов модульно-рейтинговой системы организации учебного процесса при изучении дисциплины «Организация и экономика фармации» младшими специалистами фармации.

The implementation of the basic principles of module-rating system in organization of the educational process while studying subject "Organization and economics of pharmacy" by junior specialist of pharmacy was described in this article.

Ефективність і якість навчання студентів завжди була і залишається однією із найбільш актуальних проблем професійної освіти. Питання організаційно-методичного забезпечення навчального процесу, зміст програм підготовки, формування компетентного фахівця та оцінка досягнень студентів є предметом досліджень сучасної професійної педагогіки.

Побудова навчального процесу на основі модульно-рейтингової системи, як вважається, може стати заходом, що створить умови для реалізації сучасних завдань професійної освіти, забезпечить гнучкість змісту навчання та пристосованість до рівня базової підготовки студента за допомогою організації навчально-пізнавальної діяльності за індивідуальною навчальною програмою [6–8].

Мета роботи

Визначити переваги та проблеми запровадження модульно-рейтингової системи побудови навчального процесу при вивченні дисципліни «Організація і економіка фармації» молодшими спеціалістами фармації та перевірити, як впливають ці заходи на якісні показники успішності студентів.

Реалізація Болонської угоди у системі професійної освіти зумовила пошук способів організації підготовки студентів з урахуванням основної ідеї процесу – покращення ефективності та результативності вищої освіти та впровадження засобів описання кваліфікацій у зрозумілих для широкого освітнього загалу термінах (Болонська Угода, 1999 р.). Процес модернізації пов'язують з новою парадигмою освіти – навчанням на основі компетенцій. Україна приєдналась до Болонської декларації у 2005 році, чим узяла на себе зобов'язання переглянути зміст і систему організації професійної освіти. У зв'язку з цим, перед навчальними закладами поставлено завдання розробити модульні програми навчання з дисциплін на основі компетенцій, одиницею виміру навчального навантаження студента став кредит, а досягнення студентів оцінюються за бально-рейтинговою системою [5].

У педагогічній літературі виявлено ряд визначень поняття «модуль», що розкривають сутність модуля у зв'язку з організацією навчального процесу та як засобу формування компетенцій.

Модуль – це задокументована завершена частина освітньо-професійної програми (ОПП) (навчальної дисципліни, практики, державної атестації), що реалізується відповідними видами навчальної діяльності студентів (лекції, практичні, семінарські, лабораторні заняття, самостійна й індивідуальна робота, практики, контрольні, кваліфікаційні роботи) [5].

Модуль – цілісний набір умінь, знань, ставлень і досвіду (компетенцій), що описані у формі вимог, яким має відповідати студент після завершення модуля [1].

Невід'ємним елементом модульного навчання є рейтингова система оцінки досягнень студентів. В її основу покладено накопичення визначеної кількості балів за різнобічну навчально-пізнавальну діяльність студента з певної навчальної дисципліни [4].

Розглянемо використання модульно-рейтингової системи організації навчального процесу на прикладі дисципліни «Організація і економіка фармації» (ОЕФ) при підготовці молодших спеціалістів фармації.

ОЕФ входить до циклу професійно-практичних дисциплін освітньої програми. Завдання дисципліни полягає у забезпеченні студента знаннями й уміннями у межах основного виду професійної діяльності, а саме надання якісної фармацевтичної допомоги населенню.

Реалізація модульно-рейтингової технології базується на структуруванні дидактичного матеріалу дисципліни з урахуванням наявного логічного зв'язку навчального матеріалу з метою його послідовного засвоєння студентами та оцінюванні їх досягнень у балах у процесі виконання певної сукупності навчальних завдань.

Робочу навчальну програму з дисципліни розділено на 4 модулі (по 2 у семестрі). Зміст модулів є відносно самостійним, логічно завершеним розділом дисципліни.

Модульна програма з дисципліни включає:

- перелік модулів;
- зміст кожного модуля;
- теми лекцій, практичних занять, теми для самостійного вивчення;
- кількість годин і кредитів, що відводяться на вивчення дидактичної одиниці і підсумковий модульний контроль;

- форми і методи контролю;
- систему оцінювання результатів навчання;
- рекомендовану літературу.

У модулі I «Організація діяльності аптеки» студенти вивчають нормативно-правове регулювання діяльності у сфері обігу лікарських засобів, базові принципи організації лікарської допомоги населенню, порядок відпуску з аптек різних категорій лікарських засобів, основи фармацевтичної етики і деонтології.

У модулі II «Організація роботи аптеки з товарними запасами» вивчається діяльність аптеки щодо раціонального забезпечення населення лікарськими засобами, організації замовлення, зберігання та відпуску лікарських засобів, сутність фармацевтичної опіки.

У модулі III «Основи економіки аптекних закладів» вивчаються загальні принципи фармацевтичної економіки, основи ціноутворення на лікарські засоби, облік надходження та витрат товарно-матеріальних цінностей, облік розрахункових операцій.

У модулі IV «Основи економічного аналізу торговельно-фінансової діяльності аптек» вивчається характеристика основних економічних показників діяльності, їх аналіз та планування.

Формами організації навчального процесу є лекції, навчальні практики та самостійна робота студента.

У процесі засвоєння теоретичного матеріалу, виконання практичних завдань та самостійної роботи студент формує знання, уміння, навички та компетенції для майбутньої професійної діяльності.

Тому студенти проінформовані про зміст і цілі модулів на початку вивчення дисципліни. Це допомагає їм точніше розуміти, які знання вони отримають, яких результатів від них очікують і які професійні компетенції можуть бути сформовані.

Компетенції молодших спеціалістів-фармацевтів на первинних посадах визначені «Освітньо-кваліфікаційною характеристикою» (ОКХ) Галузевих стандартів вищої освіти [3]. «Освітньо-професійна програма» та робочі навчальні програми з дисциплін забезпечують можливість підготовки майбутнього фармацевта. Аналіз ОКХ та ОПП Галузевих стандартів вищої освіти рівня «молодший спеціаліст» [2], показав, що знання теоретичного матеріалу модулів не однаковою мірою формують професійну компетентність фармацевта. Так, для кваліфікації «молодший спеціаліст-фармацевт» основний обсяг знань сконцентрований у перших трьох модулях. Четвертий модуль формує знання щодо аналізу й управління фармацевтичною діяльністю, що є необхідними для освітніх рівнів спеціаліста і магістра. Тому при вивченні

IV модуля логічно сформувати базові знання, а зміст I–III модулів доповнювати матеріалами, що відповідають сучасним вимогам практичної діяльності.

Оцінка знань, умінь і навичок студентів здійснюється за стимулюючою бально-рейтинговою системою, що передбачає оцінювання усіх видів навчальної діяльності студента (теоретичної підготовки, практичної і самостійної роботи, виконання додаткових (заохочувальних) завдань). Бали нараховуються протягом вивчення модуля і демонструють рівень осягнення навчального матеріалу.

Форми поточного контролю навчальної роботи студента:

- усне і письмове фронтальне опитування;
- оцінювання виконання практичних завдань;
- оцінювання завдань, запланованих для самостійного опрацювання.

На кожному занятті оцінюється діяльність усіх 100% студентів. При цьому значна увага приділяється самостійній роботі студента, що є невід'ємною складовою навчального процесу. Завдання для самостійної роботи створені так, щоб активізувати розумову діяльність студента, стимулювати до самостійного пошуку інформації та її використання для вирішення задач, пов'язаних з навчальною діяльністю і майбутньою професією.

Загальний рейтинг з модуля складається з результатів, отриманих протягом вивчення модуля, і успішної здачі підсумкового модульного контролю. Структуру загального рейтингу з модуля наведено на *рис. 1*.

Рейтингова система оцінки модуля з дисципліни ОЕФ здійснюється за 200-бальною шкалою. Це максимальна кількість балів, яку студент може отримати за результатами засвоєння модуля.

Рейтинг поточної успішності (оцінювання практичних умінь, теоретичних знань, самостійної роботи) максимально складає 120 балів (60%), модульний контроль – 80 балів (40%).

Мінімальна кількість балів, яку має отримати студент, щоб бути допущеним до складання модульного контролю складає 70 балів, мінімальна кількість балів, що зараховується за результатами модульного контролю – 50 балів, що в сумі складає 120 балів і відповідає оцінці «задовільно».

Переведення рейтингових балів у національну оцінку здійснюється за схемою:

- 200–180 балів – відмінно («5»);
- 179–150 балів – добре («4»);
- 149–120 балів – задовільно («3»);
- Менше 120 балів – незадовільно.

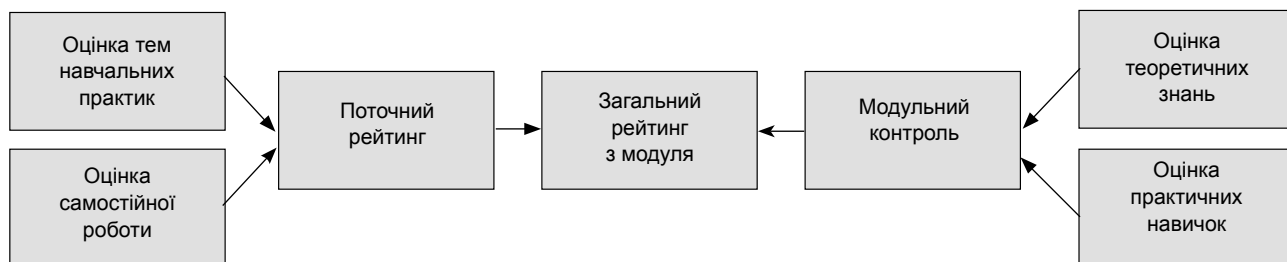


Рис. 1. Структура загального рейтингу з модуля.

Якісні показники навчально-професійної діяльності студентів у балах за результатами вивчення модулів і загальний рейтинг з дисципліни

Система оцінювання	Контроль	Модуль 1	Модуль 2	Модуль 3	Модуль 4	Загальний рейтинг
Бали від 150 до 200 («4», «5»)		66,67%	72,22%	63,89%	61,11%	66,67%
Бали від 120 до 149 («3»)		33,33%	27,78%	36,11%	38,89%	33,33%
Всього		100%	100%	100%	100%	100%

Загальний рейтинг студента з дисципліни розраховується як середнє значення суми балів чотирьох модулів. Отриманий бал переводиться у національну оцінку.

Здійснено аналіз якісних показників навчально-професійної діяльності студентів. Результати наведено у таблиці 1.

Використання рейтингової системи оцінювання дає можливість підвищити кінцевий результат з дисципліни, а отже підтверджує доцільність впровадження рейтингової системи як такої, що всебічно враховує досягнення студентів. Крім того, можна не лише оцінити навчальну роботу студента, але й визначити схильності студента до виконання тих чи інших дій професійного характеру.

Так, вищі якісні показники при вивченні II модуля свідчать, що студенти більше здатні до виконання функцій з надання фармацевтичної допомоги і менше схильні до виконання обов'язків, пов'язаних з організацією, аналізом і управлінням фармацевтичною діяльністю.

Слід наголосити, що аналіз здійснювали при дотриманні принципу «рівних умов»: однакового обсягу дидактичного матеріалу та співвідношення часу, відведеного на лекції, практичну і самостійну роботу у кожному з чотирьох модулів.

Висновки

Впровадження модульно-рейтингової системи при вивченні ОЕФ дає наступні переваги:

- перехід до технології модульного навчання забезпечує процес комплексного засвоєння знань і умінь, необхідних для формування професійної компетенції;

- зміст дисципліни подається логічно пов'язаними блоками, що сприяє етапності набуття знань;
- дає можливість визначити основний обсяг навчального матеріалу з дисципліни, необхідний для формування професійних компетенцій фармацевта;
- можливість структурувати матеріал для аудиторної роботи і самостійного вивчення, що є способом вирішення проблеми середньої професійної освіти: вивчення досить великого обсягу навчального матеріалу протягом короткого часу (один рік);
- модульна система забезпечує можливість внесення змін до змісту дисципліни відповідно до вимог практичної діяльності;
- бально-рейтингова система забезпечує диференційний підхід до оцінки досягнень студента;
- накопичувальна система оцінювання враховує усі види навчальної діяльності студента, що дозволяє повною мірою контролювати зусилля студента у набутті знань, а студенту надається певна свобода вибору дій для набору потрібного рейтингу.

До проблем, що потребують вирішення у зв'язку із введенням модульно-рейтингової системи, належать:

- значне навантаження на викладача на етапі педагогічного проектування;
- необхідність розробки значної кількості різноманітних дидактичних матеріалів, орієнтованих на майбутню професійну діяльність студента;
- необхідність створення чітких критеріїв оцінювання діяльності студентів у межах кожного модуля;
- низький рівень сформованості у студентів навичок самостійного пошуку й опрацювання інформації.

Список літератури

1. Вишнякова С.М. Профессиональное образование: Ключевые понятия, термины, актуальная лексика: Словарь. – М.: НМЦ СПО, 1999. – 538 с.
2. Галузевий стандарт вищої освіти по спеціальності 5.12020101«Фармація». – 2011 р.
3. Горяча Л.О. Компетентнісний підхід до розробки Галузевих стандартів вищої освіти у підготовці молодших спеціалістів фармації / Горяча Л.О., Прокопенко Т.С. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2011. – №4 (18). – С. 43–45.
4. Положення про кредитно-модульну організацію навчального процесу (на основі Тимчасового положення, затвердженого Наказом МОН України від 23.01.2004р. №48) / М-во охор. здоров'я, Коледж НФаУ. – Х., 2006/2007. – 24 с.
5. Про впровадження кредитно-модульної системи організації навчального процесу // Наказ МОНУ №774 від 30.12.2005 р.
6. Болюбаш Я.Я. Організація навчального процесу у вищих навчальних закладах освіти: навч. посібник для слухачів закладів підвищення кваліфікації системи вищої освіти / Я. Я. Болюбаш. – К.: ВВП «Компас», 1997. – 64 с.
7. Сікорський П.І. Модульно-рейтингова система навчання / Сікорський П.І. // Педагогіка і психологія. – 1997. – №2.
8. Юцявичине П. А. Теория и практика модульного обучения / П. А. Юцявичине // Сов. педагогика. – 1990. – №1. – С. 55–60.

Відомості про авторів:

Горяча Л.О., викладач коледжу НФаУ.
Прокопенко Т.С., к. фарм. н., директор коледжу НФаУ.

Надійшла в редакцію 09.08.2012 р.



В.М. Одинцова

Роль практичних навичок при вивченні фармакогнозії

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: практичні навички, фармакогнозія, рейтингова система, професійна компетентність.

Ключевые слова: практические навыки, фармакогнозия, рейтинговая система, профессиональная компетентность.

Key words: practical skills, Pharmacognosy, rating system, professional competence.

Висвітлено роль практичних навичок при вивченні фармакогнозії в умовах запровадження засад Болонської декларації і формуванні фармацевтичного мислення, професійних навичок і умінь майбутнього фахівця.

Показана роль практических навыков при изучении фармакогнозии в условиях внедрения принципов Болонской декларации и формирования фармацевтического мышления, профессиональных навыков и умений будущего специалиста.

The article is devoted to the role of practical skills in studying Pharmacognosy for implementation of Bologna Declaration and formation of the pharmaceutical thinking, professional skills and abilities of a future specialist.

Характерною ознакою сьогодення є реалізація у вищій медичній школі масштабної програми запровадження засад Болонської декларації. Вступ України до європейського освітнього простору, її участь у Болонському процесі передбачає впровадження новітніх технологій навчання, спрямованих, перш за все, на підвищення якості підготовки фахівців, знання й уміння яких повністю відповідатимуть вимогам європейського ринку праці [4]. Інтеграція України в європейський освітній простір вимагає від майбутніх спеціалістів конкурентоспроможності на фармацевтичному ринку. Докорінні зміни, що відбулись за останнє десятиріччя у вітчизняній фармації, вимагають від професорсько-викладацького складу поєднати сучасного бачення розвитку дисципліни, високого професіоналізму у творчого підходу при викладанні фармакогнозії [6].

Мета роботи

Розкриття ролі практичних навичок при вивченні фармакогнозії і формуванні професійної компетентності майбутніх спеціалістів.

Фармакогнозія – одна із фахових дисциплін, що входить до складу інтегрованого практично-орієнтованого державного іспиту. Її роль у формуванні професійних навичок і умінь майбутнього молодого спеціаліста та його фармацевтичного мислення визначається фактом, що засоби рослинного походження становлять більше третини усіх лікарських засобів, дозволених для медичного застосування в Україні [2]. Лікарська рослина сировина (ЛРС) як самостійний засіб дозволена для безрецептурного відпуску хворим з аптеки, а також використовується як субстанція для отримання лікарських препаратів. Протягом останніх десятиліть у медичній практиці велику увагу приділяють лікарським засобам рослинного походження та їх раціональному використанню.

Постійно зростаючий потік біологічно активних добавок з використанням рослинної сировини, а також проблема фальсифікації ЛРС і препаратів рослинного походження вимагають високої компетентності від майбутніх спеціалістів. Тому орієнтація провізора в усіх питаннях, пов'язаних з отриманням ЛРС, методів дослідження, її стандартизацією, зберіганням і використанням говорить про рівень професіоналізму спеціаліста. Кінцеві цілі фармакогнозії як навчальної дисципліни визначаються знаннями й уміннями, що сформульовані

в програмі з фармакогнозії і знайшли відображення в державному стандарті освіти за фахом «фармація» [8].

Проблема професійної підготовки майбутніх провізорів, формування їх професійної компетентності є одним із головних завдань навчально-виховного процесу, що набуває актуальності. Особливості роботи фармацевтичних закладів вимагають від випускників не лише знань та умінь, але й здатності використовувати отримані знання для практичного вирішення завдань, що виникають у процесі професійної діяльності [3].

Тому при засвоєнні фармакогнозії основна увага приділяється практичним навичкам, які студенти набувають на усіх етапах навчання: при вивченні теми одного практичного заняття, при проведенні рубіжного контролю після вивчення тем, що входять у змістовний модуль, в кінці кожного семестру, в ході підсумкових модулів і державної атестації [8]. На заняттях з фармакогнозії робота студентів проводиться в парах, вони вивчають лікарські рослини та ЛРС (на прикладі визначення зразків гербарію та сировини – об'єктів заняття). Кожний студент самостійно, користуючись алгоритмічними схемами, приймає рішення при проведенні одного з етапів товарознавчого аналізу, набуває навичок визначення ідентичності ЛРС за мікроскопічними ознаками, засвоює фізико-хімічні властивості, підбирає екстрагент для виділення певної групи біологічно-активних речовин, за допомогою якісних реакцій визначає якісний склад ЛРС і проводить кількісне визначення основної групи речовин [1,5,7,9]. Засвоєнню матеріалу допомагають розроблені на кафедрі таблиці, схеми, постійне поповнення гербарійного й сировинного фонду та фотоматеріалу. На змістовних і підсумкових модулях студентам пропонується порошокаване завдання, до складу якого входить два або три компоненти лікарської рослинної сировини, розтертої в порошок. Необхідно ідентифікувати ЛРС за допомогою мікроскопічного аналізу і зробити висновок.

Використання рейтингової системи дозволяє ранжувати знання і відібрати критерії оцінки кожного компонента практичних навичок. Ця інформація доступна студентові, він знає, що з нього вимагатимуть і як оцінюватимуть [6].

Закріплення і набуття нових практичних навичок відбувається під час проходження студентами III курсу

фармацевтичного факультету Запорізького державного медичного університету навчальної практики з фармакогнозії. Студенти вчаться на практиці проводити ідентифікацію лікарських рослин і морфологічно близьких видів у природі, розглядають питання організації заготівлі лікарської рослинної сировини, що є важливим джерелом виробництва лікарських засобів, зберігання та переробки ЛРС. Приділяється увага основам культивування лікарських рослин; виявленню заростей дикорослих лікарських рослин, ознайомленню з методами вивчення запасів ЛРС і надання рекомендацій щодо раціонального використання природних ресурсів.

На практиці студенти є не пасивними спостерігачами, а активними її учасниками, готуючи гербарій. Вони ведуть щоденник, куди заносять відомості про кожну заготовлену рослину на основі отриманої протягом практики інформації. Крім того, отримані знання із заготівлі ЛРС студенти використовують при самостійному зборі невеликої кількості сировини, яку разом з гербарієм здають наприкінці практики. Після закінчення практики, в процесі якої студенти пізнають ЛР у природних умовах, вивчення фармакогнозії набуває більш предметного характеру. Назви ЛР становлять для студентів вже не абстрактну, а конкретну інформацію. Студенти стають спроможними орієнтуватись у схожих видах ЛР, відрізняти офіційні лікарські рослини від неофіційних, розуміють, як і чому використовуються ЛР.

Отже, навчальна практика з фармакогнозії дає студентам можливість набути необхідні практичні навички в аспекті майбутньої професійної діяльності.

Набуті практичні навички з фармакогнозії студенти-випускники мають продемонструвати на інтегрованому практично-орієнтованому Державному іспиті з випускних дисциплін (фармацевтична хімія, фармакогнозія та клінічної фармація). Протягом екзамену оцінюється якість вирішення випускником типових задач діяльності згідно з вимогами освітньо-кваліфікаційної характерис-

тики (ОКХ), демонстрування відповідних умінь і навичок в умовах, наближених до реальних. З дисциплін, що входять до державного іспиту («Фармакогнозія», «Ресурсознавство лікарських рослин»), створені завдання, за якими студент виконує професійні дії на відповідних робочих місцях. З фармакогнозії необхідно здійснити контроль якості лікарських засобів рослинного походження, тобто виконати аналіз лікарської рослинної сировини, біологічно активних речовин, засобів чи продуктів рослинного походження, що пропонуються в білеті. Демонстрація основних умінь і навичок, згідно з вимогами ОКХ, проводиться в декілька етапів: ідентифікувати ЛР за гербарним зразком, скласти схему заготівлі, первинної обробки, сушіння ЛРС; ідентифікувати ЛРС за морфологічними ознаками, назвати умови її зберігання; виявити групу біологічноактивних речовин у ЛРС, зазначити метод стандартизації цієї групи БАР за АНД. Набуті практичні навички перевіряють під час вирішування ситуаційних завдань, що включають розрахунок експлуатаційних запасів та обсягу щорічних можливих заготівель зразка ЛРС; на основі опису морфолого-анатомічних ознак, наведеного у фармакопейній статті ДФ XI або монографії ДФ України, назвати характерні діагностичні ознаки і провести ідентифікацію зразка ЛРС.

Отже, така форма державної атестації випускників як практично-орієнтований випускний іспит з дисципліни «Фармакогнозія» дозволяє об'єктивно та всебічно оцінити рівень засвоєння практичних навичок в аспекті майбутньої професійної діяльності.

Висновки

З переосмисленням завдань сьогодення з'явилась потреба у перегляді підходів до освіти сучасного фахівця в галузі фармації. Вивчення фармакогнозії як профільної дисципліни є невід'ємною частиною формування майбутнього спеціаліста. Критерієм якості підготовки є засвоєння практичних навичок з фармакогнозії, умінь і знань, передбачених програмою, що є родючим ґрунтом, на якому формується професійна компетентність студентів.

Список літератури

1. Бобокова І.А. Фармакогнозія. Посібник для практичних занять: Навч. посібник / Бобокова І.А. – К.: Медицина, 2006. – 272 с.
2. Компендиум 2011 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2011. – 2320 с.
3. Краснов В.В. Компетентністний підхід у формуванні моделі провізора на етапах безперервного професійного розвитку / Краснов В.В., Ветютнева Н.О. // Науково-методична конференція з міжнародною участю. Проблеми безперервного професійного розвитку лікарів і провізорів: 36. праць. К., 2007. – С. 438–445.
4. Новікова Л.М. Болонський процес у дії. Кредитно-модульна система навчання: Навч. посібник / Новікова Л.М. – Павлоград, 2006. – 100 с.
5. Одинцова В.М. Особливості організації самостійної роботи студентів за кредитно-модульною системою при вивченні фармакогнозії / В.М. Одинцова, О.М. Денисенко // Запор. мед. журнал. – 2012. – №2 (71). – С. 128–129.
6. Організація навчального процесу на кафедрі фармакогнозії в контексті болонської декларації / В.С. Доля, В.І. Мозуль, В.В. Головкін [та ін.] // Вища освіта України. Теоретичний та науково-методичний часопис – 2011. – Т. II (27), № 3 (додаток 2). – С. 159–164.
7. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В.Н. Ковалев, Н.В. Попова, В.С. Кисличенко [и др.]; под общ. ред. В. Н. Ковалева. – Х.: Изд-во НФаУ «Золотые страницы», 2003. – 512 с.
8. Програма навчальної дисципліни «Фармакогнозія» (для студентів вищого фармацевтичного навчального закладу та фармацевтичних факультетів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації спеціальність «Фармація»). – К.: МОЗ України. Центральний методичний кабінет з вищої медичної освіти, 2011. – 36 с.
9. Солодовниченко Н.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: посібник з фармакогнозії з основами біохімії лік. рослин / Солодовниченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. – Х.: Вид-во НФаУ «Золоті сторінки», 2001. – 408 с.

Відомості про автора:

Одинцова В.М., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 09.10.2012 р.