



№ 2  
(9)  
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 №9 від 31.05.2012 р.  
Підписано до друку 20.05.2012 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 № 7/12

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**

<i>В.М. Водославський, Т.В. Опрошанська, О.П. Хворост</i> <b>Вивчення вітамінного складу трави зірочника середнього</b> .....	4
<i>Т.В. Джан</i> <b>Порівняльний аналіз хімічного складу летких сполук у плодах і листі хеномелесу (<i>Chaenomeles</i>)</b> .....	6
<i>О.К. Єренко, О.В. Мазулін, П.А. Логвін, Г.В. Мазулін</i> <b>Амінокислотний склад рослинної сировини омани британського у вегетаційний період</b> .....	10
<i>О.М. Кошовий, Б.А. Виноградов, А.М. Ковальова, А.М. Комісаренко</i> <b>Терпеноїдний склад листя деяких видів шавлії України</b> .....	13
<i>С.В. Панченко, Л.М. Сіра, В.Г. Корнієвська, Ю.І. Корнієвський</i> <b>Дослідження анатомічної будови надземних органів <i>Valeriana grossheimii</i> Worosch</b> .....	19
<i>Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, А.М. Комісаренко, М.Ф. Гончаров</i> <b>Хромато-мас-спектрометричне дослідження ліпофільних сполук глодів представників секції <i>Tenuifoliae</i> Sarg</b> .....	26
<i>М.І. Шанайда, С.М. Марчишин</i> <b>Пігментний склад надземної частини <i>Monarda fistulosa</i> L.</b> .....	31



**Експериментальна  
та клінічна  
фармакологія**

<i>С.М. Коваленко</i> <b>Дослідження деяких властивостей субстанції таурину та тіоктової кислоти з метою створення комбінованого препарату для лікування діабетичних ускладнень</b> .....	33
<i>О.С. Разкевич</i> <b>Дослідження протизапальних властивостей мазевої композиції Мареполіміел</b> .....	37



**Синтез та аналіз  
біологічно  
активних сполук**

<i>В.І. Гусаров, С.М. Коваленко, Л.В. Євсєєва</i> <b>Виділення жовчних кислот з жовчі великої рогатої худоби</b> .....	41
<i>Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Б.А. Самура, А.В. Таран, В.І. Корнієнко</i> <b>Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 1,8-дизаміщених теоброміну. II. 1-П-хлоробензил-8-амінотеоброміни</b> .....	44
<i>Л.І. Кучеренко, Н.В. Парнюк, Л.І. Шаповалова, О.О. Портна, З.Б. Моряк</i> <b>Розробка оптимальної методики визначення кількісного вмісту тіотриазоліну</b> .....	48
<i>М.І. Лелюх, Д.Я. Гаврилюк, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик</i> <b>Синтез нових неконденсованих похідних 4-тіазолідинону з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом у молекулах та їх протипухлинна активність</b> .....	51
<i>Ю.В. Монайкіна, О.О. Тарханова, С.О. Васюк, В.В. Гладішев</i> <b>Кількісне визначення ділтіазему в субстанції спектрофотометричним методом</b> .....	56
<i>А.І. Панасенко, В.П. Буряк, В.А. Салионов, Ю.В. Тимошик, І.А. Юрченко</i> <b>УФ-спектрофотометрия лекарственных средств, производных сиднонимина</b> .....	59
<i>В.В. Прокопець, О.А. Здорик, О.А. Євтіфєєва, К.І. Проскуріна, В.А. Георгіяни</i> <b>Валідація методик ідентифікації та кількісного визначення кислоти ніотинової в екстемпоральних лікарських засобах</b> .....	62
<i>О.О. Тарханова, А.М. Постика, Ю.В. Монайкіна, С.О. Васюк, Д.І. Дочинець</i> <b>Застосування солей тетразолію для кількісного визначення антибіотиків цефалоспоринового ряду</b> .....	66
<i>С.В. Хирков, Д.Я. Гаврилюк, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик</i> <b>Синтез і протипухлинна активність неконденсованих систем з 2-оксоіндольним та 4-тіазолідиноновим фрагментами в молекулах</b> .....	74
<i>Lyudmyla M. Antypenko, Sergiy I. Kovalenko, Maryna M. Kornef, Olexandr O. Brazhko</i> <b>Investigation of plant growth regulation activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2- ylsulfanyl) carboxylic acids and amides on <i>Cucumis Sativus</i> L. Roots</b> .....	79



**Технологія  
виробництва  
ліків**

<i>В.М. Коваль, Л.В. Вронська</i> <b>Визначення екстракту ехінацеї у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіновою та екстрактом ехінацеї пурпурової.....</b>	<b>83</b>
<i>С.А. Куценко</i> <b>Розробка складу настойки для комплексної терапії варикозної хвороби вен.....</b>	<b>88</b>
<i>А.Ю. Мордінсон, М.О. Хмельова, О.А. Євтіфєєва</i> <b>Оптимізація та валідація хімічних методів ідентифікації інгредієнтів мазі Бороментол аптечного виготовлення.....</b>	<b>91</b>
<i>Н.П. Половко, А.О. Башура, О.Г. Башура</i> <b>Дослідження гелів гуарової камеді.....</b>	<b>94</b>
<i>Г.Д. Сліпченко, І.І. Басакіна</i> <b>Дослідження з вибору допоміжних речовин при розробці препарату з рослинної сировини для поліпшення інтеграційної діяльності головного мозку.....</b>	<b>97</b>



**Фармацевтичний  
менеджмент  
і маркетинг**

<i>Т.А. Германюк, С.П. Дзюбенко</i> <b>Дослідження фармацевтичного ринку антигелікобактерних препаратів та аналіз мінімізації витрат антигелікобактерної терапії.....</b>	<b>102</b>
<i>К.О. Хохлова, Л.І. Вишневська, Т.С. Сахарова</i> <b>Маркетинговий аналіз ринку лікарських засобів із сировиною глоду для лікування хвороб системи кровообігу.....</b>	<b>107</b>
<i>Л.В. Яковлева, О.Я. Міщенко, В.Ю. Адонкіна</i> <b>Комплексна оцінка витрат на фармакотерапію гострих порушень мозкового кровообігу з позиції ABC-, VEN- та частотного аналізу.....</b>	<b>112</b>



**Практична  
медицина**

<i>Е.Н. Левик, А.П. Колесник, А.А. Кузьмичев, Т.О. Христенко</i> <b>Оценка отдаленных результатов оперативного и комплексного лечения больных раком желудка.....</b>	<b>116</b>
<i>Е.Н. Разнатовская</i> <b>Интегральные индексы эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких.....</b>	<b>119</b>
<i>Ю.Ю. Рябоконт</i> <b>Клінічні особливості HCV-асоційованих уражень нервової системи у хворих на хронічний гепатит С.....</b>	<b>121</b>
<i>В.В. Сиволап, Н.В. Туманська, Л.В. Франскявіченє</i> <b>Ремоделювання лівих відділів серця у хворих на первинну діастолічну хронічну серцеву недостатність ішемічного генезу залежно від профілю наповнення лівого шлуночка.....</b>	<b>124</b>



**Питання  
фармацевтичної  
освіти**

<i>Н.В. Авраменко, Д.Є. Барковський, О.А. Нікіфоров, О.В. Кабаченко, І.Б. Грідіна</i> <b>Оптимізація навчального процесу щодо викладання аспектів репродуктивної медицини на медичному факультеті медичного університету.....</b>	<b>127</b>
--	------------



В.М. Водославський<sup>1</sup>, Т.В. Опрошанська<sup>2</sup>, О.П. Хворост<sup>2</sup>

## Вивчення вітамінного складу трави зірочника середнього

<sup>1</sup>Івано-Франківський державний медичний університет,

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** зірочник, трава, вітаміни.

**Ключевые слова:** звездчатка, трава, витамины.

**Key words:** stellaria, herb, vitamins.

Визначено кількісний вміст вітамінів  $B_1$ ,  $B_2$ , PP та E в різних серіях трави зірочника середнього з різних місць заготівлі, що становив не менше ніж  $9,40 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г,  $1,22 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г,  $14,21 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г та  $34,78 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г відповідно.

В результате исследования определено количественное содержание витаминов  $B_1$ ,  $B_2$ , PP и E в разных сериях травы звездчатки средней с разных мест произрастания, который составил не менее  $9,40 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г,  $1,22 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г,  $14,21 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г и  $34,78 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/г соответственно.

As a result of research quantitative content of vitamins  $B_1$ ,  $B_2$ , PP and E was certain in different series of herb of *Stellaria media* from different places of growth which compile not less  $9,40 \cdot 10^{-3}$  mkmol/g,  $1,22 \cdot 10^{-3}$  mkmol/g,  $14,21 \cdot 10^{-3}$  mkmol/g and  $34,78 \cdot 10^{-3}$  mkmol/g.

Вітаміни – це органічні сполуки з високою біологічною активністю, необхідні для нормальної життєдіяльності. Вони не синтезуються (або синтезуються в недостатній кількості) в організмі і надходять з їжею. На перший погляд, роль вітамінів у діяльності організму не так значуща, вони не є структурними компонентами мембран клітин, як жири й білки, не є джерелами енергії, як резервні речовини. Проте важливо, що вітаміни входять до складу ферментів, що каталізують реакції обмінних процесів організму, а також беруть участь у процесі побудови та функціонуванні мембран клітин і клітинних структур. Зокрема, вітаміни необхідні для процесів росту, підтримки нормального кровотворення й статевої функції, нормальної діяльності нервової, серцево-судинної й травної систем, залоз внутрішньої секреції, що продукують різні гормони, підтримки зору й нормальних властивостей шкіри. Вітамінам належить також винятково важлива роль у забезпеченні адекватної імунної відповіді, у підтримці резистентності організму до ряду інфекцій, отрут, радіоактивного випромінювання та інших несприятливих зовнішніх факторів [1, 10, 11].

Комплекси вітамінів, що містяться в рослинних і тваринних продуктах, мають значні переваги над синтетичними вітамінами, оскільки вони знаходяться в гармонійному співвідношенні та поєднанні з рештою біологічно активних речовин. Організм людини потребує надходження близько 20 вітамінів ззовні, інші синтезуються в організмі [1].

В аспекті пошуку нових доступних видів вітчизняної лікарської сировини нашу увагу привернув зірочник середній *Stellaria media*. Ця одно-, дворічна трав'яниста рослина швидко відтворюється у вигляді пухких дернин [3, 6]. У народній медицині траву застосовують при ряді захворювань, адже вона поліпшує діяльність серця і стан нервової системи, зменшує різні больові відчуття, спиняє кровотечу, загоює гнійні рани й розсмоктує пухлини різного походження [2, 5, 6]. Зовнішньо міцний настій у вигляді примочок використовують при захворюваннях шкіри (вугри, порізи, висипи, гнійні рани), у

вигляді ванн – при набряках ніг і нервовому збудженні. До лікувально-профілактичного харчового раціону (особливо при захворюваннях легень, серця, печінки та нирок) включають салати з молодого свіжого листя і пагонів [6–8].

У доступній науковій літературі є дані про наявність в траві цієї рослини вітаміну C, вміст якого сягав 65 мг% [6, 8] та значної кількості вітаміну E, відомостей про вміст інших вітамінів в цьому виді сировини не виявлено.

### Мета роботи

Визначення кількісного вмісту вітамінів  $B_1$ ,  $B_2$ , PP та E в траві зірочника середнього.

### Матеріали і методи дослідження

Для дослідження використовували середні проби серій сировини, заготовленої у Вінницькій області, Крижопільському р-ні, с. Горячківці (серія 1-04.07.10), в Івано-Франківській області, Яремченському р-ні, смт Яремче (серія 2-12.07.10), в Харківській області, Харківському р-ні, с. Липцях (серія 3-10.07.10), в Хмельницькій області, Дунаївському р-ні, м. Дунаївцях (серія 4-06.07.10) та в Чернівецькій області, Кіцманському р-ні, с. Берегометі (серія 5-09.07.10) протягом червня 2010 року в фазу масового цвітіння. Вміст вітамінів  $B_1$  та  $B_2$  визначали за допомогою методу флуориметрії на флуориметрі ЕФ-ЗМА [9]. Визначення інтенсивності флуоресценції вітаміну  $B_1$  проводили за допомогою шкали гальванометра. В процесі прободготовки для кількісного визначення вмісту вітаміну  $B_1$  сировину екстрагували 0,1 N кислотою сульфатною, вітаміну  $B_2$  – фосфатним буфером при нагріванні. Вміст вітаміну PP визначали за методом колориметрії за допомогою фотоелектроколориметра КФК-2 з синім світлофільтром. Екстракцію сировини проводили 50% спиртом етиловим при нагріванні. Вміст вітаміну E визначали за допомогою азотного методу, заснованому на колориметричному вимірюванні інтенсивності червоного забарвлення, що виникало при окисленні токоферолів кислотою нітратною в спиртовому розчині [4]. Сировину екстрагували 50% розчином калію гідроксиду спиртовим при нагріванні.

Кількісне визначення вітамінів у траві зірочника середнього

Назва вітаміну	Серія сировини, (n=5, в 10 <sup>-3</sup> мкмоль/г)				
	Серія №1	Серія №2	Серія №3	Серія №4	Серія №5
B <sub>1</sub>	9,87±0,36	9,40±0,33	9,98±0,34	9,75±0,32	10,17±0,36
B <sub>2</sub>	1,30±0,05	1,22±0,05	1,33±0,05	1,36±0,05	1,25±0,05
PP	14,62±0,38	14,21±0,37	14,30±0,37	14,78±0,38	14,54±0,38
E	35,45±1,05	34,78±1,00	35,34±1,07	36,06±1,06	35,29±1,03

Статистичну обробку отриманих результатів здійснено за допомогою пакету прикладних програм Statistica 6.0.

#### Результати та їх обговорення

Результати визначення кількісного вмісту в траві зірочника середнього з різних місць заготівлі водорозчинних вітамінів B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> і PP та жиророзчинного вітаміну E наведено в таблиці 1. Встановлено, що кількісний вміст вітамінів у сировині залежно від місця заготівлі коливався незначно. Більш варіабельними залежно від місця зростання були дані визначення вмісту вітамінів B<sub>1</sub> та B<sub>2</sub>. Для всіх серій сировини характерний найнижчий вміст вітаміну B<sub>2</sub>, найвищий – вітаміну E. Найнижчий вміст

вітамінів притаманний серії сировини №2, заготовленій в Івано-Франківській області, Яремченський р-н, смт Яремче. Отже, вміст вітамінів B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP та E в різних серіях трави зірочника середнього становив не менше ніж 9,40•10<sup>-3</sup> мкмоль/г, 1,22•10<sup>-3</sup> мкмоль/г, 14,21•10<sup>-3</sup> мкмоль/г та 34,78•10<sup>-3</sup> мкмоль/г відповідно.

#### Висновки

Визначено кількісний вміст вітамінів B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP та E в різних серіях трави зірочника середнього з різних місць заготівлі, що становив не менше ніж 9,40•10<sup>-3</sup> мкмоль/г, 1,22•10<sup>-3</sup> мкмоль/г, 14,21•10<sup>-3</sup> мкмоль/г та 34,78•10<sup>-3</sup> мкмоль/г відповідно. Отримані дані будуть враховані в подальших дослідженнях цього виду сировини.

#### Список літератури

1. Витамины и микроэлементы в клинической фармакологии / Под ред. В.А. Тутельяна, В.Г. Кукеса и В.П. Фесенко. – М.: Палея, 2001. – 248 с.
2. Жукова И.Н. Лечебные и магические свойства растений / И.Н. Жукова. – Донецк: ООО ПКФ «БАО», 2006. – 304 с.
3. Кобзар А.Я. Фармакогнозия в медицине : навч. посіб. / А.Я. Кобзарь. – К.: Медицина, 2007. – 544 с.
4. Лебедев П.Т. Методы исследования кормов, органов и тканей животных / П.Т. Лебедев, А.Т. Усович. – М.: Россельхозиздат, 1976. – С. 290–293.
5. Малахов Г.П. Современное траволечение / Г.П. Малахов. – Донецк: Сталкер, 2003. – 304 с.
6. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae – Limoniaceae. – Л.: Наука, 1984. – С. 214–216.
7. Рубиш Ф.Ф. Лікарські рослини Закарпаття. Довідник з фітотерапії / Ф.Ф.Рубіш. – Ужгород: Патент, 2005. – 244 с.
8. Собецька Н.Г. Цілющі рослини Італії та України в народній медицині, косметичі, кулінарії / Н.Г. Собецька. – К., 2007. – 208 с.
9. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В.В. Влізло, Р.С. Федорук, І.А. Макар та ін. – Львів, 2004. – 399 с.
10. A comparative study of antioxidant vitamins and simvastatin in hypercholesterolemic rabbits / N.I. Syed, S. Arshad, A.A. Syed et al. // Pak J Pharm Sci. – 2011. – Vol. 24, №4. – P. 479–484.
11. Vajdy M. Immunomodulatory properties of vitamins, flavonoids and plant oils and their potential as vaccine adjuvants and delivery systems / M. Vajdy // Expert Opin Biol Ther. – 2011. – Vol. 6, № 28. – P. 325–329.

#### Відомості про авторів:

Водославський В.М., асистент каф. фармації Івано-Франківського державного медичного університету.

Опрощанська Т.В., к. фарм. н., асистент каф. ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Хворост О.П., д. фарм. н., професор каф. ботаніки Національного фармацевтичного університету

#### Адреса для листування:

Водославський Василь Мирославович. 76007 м. Івано-Франківськ, вул. Вовчинецька 124, корп. 2, кв. 21.

Тел.: (097) 701 81 38.

Надійшла в редакцію 16.12.2011 р.



Т.В. Джан

## Порівняльний аналіз хімічного складу летких сполук у плодах і листі хеномелесу (*Chaenomeles*)

ДУ «Інститут фармакології та токсикології» НАМН України, м. Київ

**Ключові слова:** хеномелес, леткі сполуки, хромато-мас-спектрометричний метод, жирні кислоти, терпеноїди.

**Ключевые слова:** хеномелес, летучие соединения, хромато-масс-спектрометрический метод, жирные кислоты, терпеноиды.

**Key words:** Japan quince, volatile compounds, chromatomass-spectroscopic method, fatty acids, terpenoids.

Наведено результати визначення якісного складу і кількісного вмісту летких сполук листя і плодів хеномелесу. В плодах і листі хеномелесу ідентифіковано 103 речовини, з яких 7 виявлені в плодах і листі всіх досліджуваних зразків. Бензальдегід і 2-нітропентан домінують у складі летких сполук листя хеномелесу, фурфурол – у складі летких сполук плодів хеномелесу. Визначено речовини-маркери для листя і плодів досліджуваних сортів хеномелесу.

Приведены результаты определения качественного состава и количественного содержания летучих соединений листьев и плодов хеномелеса. В плодах и листьях хеномелеса идентифицированы 103 вещества, из них 7 выявлены в плодах и листьях всех исследуемых образцов. Бензальдегид и 2-нитропентан доминируют в составе летучих соединений листьев хеномелеса, фурфурол – в составе летучих соединений плодов хеномелеса. Определены вещества-маркеры для листьев и плодов исследуемых сортов хеномелеса.

The results of volatile compounds determination in Japan quince leaves and fruits are presents in this article. In the Japan quince fruit and leaves identified 103 compounds, of which 7 were found in fruits and leaves of all investigated samples. Benzaldehyde and 2-nitropentan dominate the composition of volatile compounds of the Japan quince leaves, furfurool – in the volatile compounds of Japan quince fruit. Identified substance-markers for Japan quince leaf and fruit sorts studied.

Плоди хеномелесу з давніх часів використовують у східній медицині (Китай, Корея, Японія, В'єтнам) при артриті, дизентерії, диспепсії, лихоманці, холері. У Китаї вони входять до складу багатьох лікарських засобів, що використовують для лікування невралгії, мігрені і депресії. При кашлі, бронхітах, трахеїтах корисні квітки хеномелесу. Насіння хеномелесу з успіхом можна застосовувати для загоєння опіків, при трахеїтах, бронхітах, гастроентеритах, спастичному коліті, при метеоризмі. Слиз також використовують як обволікаючий засіб при виразковій хворобі шлунка й дванадцятипалі кишки [1].

Тривалі дослідження в Китаї, Японії та Кореї, спрямовані на детальне вивчення механізму дії біологічно активних речовин хеномелесу, показали, що бетулінова кислота і 3-О-(Е)-кавоїлбетулін, ідентифіковані й виділені з пагонів хеномелесу катайського, проявляють протипухлинну дію з  $IC_{50}$  5,5  $\mu$ m і 5,6  $\mu$ m відповідно [6].

Введення суми глікозидів хеномелесу прекрасного пригнічує запалення і відновлює масу тіла та імунікомпетентних органів у щурів з колаген-індукованим артритом. При використанні суми глікозидів у дозі 30, 60, 120 мг/кг маси тварини протягом 7 днів показало збільшення проліферації лімфоцитів і зростання вироблення ІЛ-2 разом із ІЛ-1 та фактора некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ) в перитонеальних макрофагах і синовіоцитах, збільшення рівня цАМФ у синовіоцитах. Водночас відзначено пригнічення експресії мРНК імуноглобуліну G(i) і TNF- $\alpha$  та збільшення експресії мРНК імуноглобуліну G(s) у синовіоцитах щурів з колаген-індукованим артритом [3]. Використання суми глікозидів хеномелесу прекрасного у щурів з ювенільним артритом показало зменшення запалення, болю, зменшення структурних

змін синовіоцитів, пригнічення виробництва ІЛ-1, TNF- $\alpha$  та простагландину E2 [7,8].

На моделі карагенінового набряку екстракти плодів хеномелесу прекрасного виявили протизапальний ефект, причому найбільшу ефективність показав екстракт, отриманий екстракцією 10% етанолом. Ця ж фракція виявила протизапальну активність на моделі ксилініндукованого набряку, черевної капілярпропроникності, індукованої оцтовою кислотою, анальгетичну активність на моделі оцтовокислих корчів і формалінового набряку на мишах і щурах. Одним із найбільш ефективних компонентів плодів хеномелесу виявилась хлорогенова кислота [2].

Для плодів хеномелесу прекрасного виявлено протисвербіжну дію на моделі хімічно індукованого дряпання мишей, найбільш ефективними компонентами плодів виявились кверцетин і апігенін [10].

Екстракт плодів хеномелесу прекрасного пригнічує у мишей діарею, індуковану термолабільним ентеротоксином, блокуючи зв'язування субодиниці В термолабільного ентеротоксину з імуноглобуліном G. Встановлено, що такий ефект мають олеанолова, урсолова і бетулінова кислоти, що містяться в плодах хеномелесу, що зв'язуються з амінокислотними залишками субодиниці В термолабільного ентеротоксину [8].

Екстракт плодів хеномелесу катайського виявив гепатопротекторну активність на моделі алкогольіндукованого гепатиту у мишей. Введення цього екстракту достовірно знижувало активність аланінамінотрансферази, аспарагін-амінотрансферази, лужної фосфатази в сироватці крові мишей, а також активність печінкової супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази і ксантиноксидази [13].

Екстракт плодів хеномелесу прекрасного показав селективне пригнічення допамінамінотрансферази і протипаркінсонічний ефект [5,11].

Флавоноїди плодів хеномелесу катайського виявили пригнічуючий вплив на тканинний тромбопластин, зокрема, найбільш ефективними виявились ховетришозид С (IC<sub>50</sub> 14,0 μм), гіперозид (IC<sub>50</sub> 20,8 μм), лютеолін-7-О-β-D-глюкуронід (IC<sub>50</sub> 31,9 μм), авікулярин (IC<sub>50</sub> 54,8 μм) [9].

Дослідження, здійснені в медичному університеті м. Лодзь (Польща), показали пригнічуючий ефект проціанідинів плодів хеномелесу японського на активність металопротеїназ MMP-2 і MMP-9 людських моноцитів і клітин лейкоїї HL-60. Найбільшу ефективність виявили проціанідини, що містять від 3 до 6 (і вище) мономерних залишків (IC<sub>50</sub> 4,6 μм суми поліфенолів/мл) [12].

Високомолекулярні поліфеноли плодів хеномелесу катайського показали противірусну ефективність на штаммах грипу А і В шляхом пригнічення гемаглютинації і синтезу протеїну NS2. Серед біологічно активних сполук хеномелесу прекрасного найвищу пригнічуючу активність на нейрамінідазу виявили протокатехова кислота і метиловий ефір яблучної кислоти – IC<sub>50</sub> 1,27 μм і 1,90 μм відповідно [4].

Сумарний екстракт плодів хеномелесу прекрасного і його різні фракції виявили ефективну пригнічуючу дію на активність α- і β-глюкозидази (82–99% і 5–85% відповідно). Менш ефективний пригнічуючий вплив встановлено на активність α- і β-галактозидази (18–35% і 10–34% відповідно). Ці дослідження показують можливість ефективного використання плодів хеномелесу в лікувально-профілактичному харчуванні хворих на діабет II типу [14].

#### Мета роботи

Дослідження вмісту летких сполук у плодах та листі хеномелесу.

#### Матеріали і методи дослідження

Об'єкт вивчення – плоди та листя хеномелесу прекрасного *Ch. speciosa* (Sweet) Nakai сортів Ніваліс і Симоні, інтродукованого в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України та сортів хеномелесу, виведених у відділі акліматизації рослин Національного ботанічного саду: хеномелесу японського *Ch. japonica*

(Thunb.) Lindl. ex Spach. сорту Ян, гібриду хеномелесу японського та прекрасного *Ch. japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach і *Ch. speciosa* (Sweet) Nakai сорту Святковий і хеномелесу прекрасного *Ch. superba* (Frahm) Rehd. сорту Амфора. Плоди хеномелесу заготовляли у серпні 2010 року.

Визначення вмісту летких сполук проводили хромато-мас-спектрометричним методом.

Наважку матеріалу (0,5–5 г) поміщають у віалу ємністю 20 мл, додають внутрішній стандарт. У якості внутрішнього стандарту використовували тридекан з розрахунку 50 мкг на наважку. У пробу додають 10 мл води і відганяють леткі сполуки проби з водяною парою протягом 2 годин з використанням зворотного холодильника з повітряним охолодженням. У процесі відгонки леткі речовини адсорбуються на внутрішній поверхні зворотного холодильника. Адсорбовані речовини після охолодження системи змивають повільним додаванням 3 мл особливо чистого пентану в суху віалу ємністю 10 мл. Змиви концентрують продуванням (100 мл/хв) особливо чистого азоту до залишкового об'єму екстракту 10 мкл, який повністю відбирають хроматографічним шприцом. Подальше концентрування проби проводять у самому шприці до об'єму 2 мкл. Введення проби в хроматографічну колонку проводять в режимі splitless, тобто без поділу потоку, що дозволяє ввести пробу без втрати на розподіл та істотно (в 10–20 разів) збільшити чутливість методу хроматографування. Швидкість введення проби – 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв. Хроматограф Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973. Хроматографічна колонка – капілярна DB-5 з внутрішнім діаметром 0,25 мм і довжиною 30 м. Швидкість газу-носія (гелій) – 1,2 мл/хв. Температура нагрівача введення проби – 250°C. Температура термостата програмована від 50°C до 320°C зі швидкістю 4°/хв. Для ідентифікації компонентів використовується бібліотека мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 з загальною кількістю спектрів більше 470 000 У поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Для кількісних розрахунків використовується метод внутрішнього стандарту.

#### Результати та їх обговорення

У результаті дослідження в плодах і листі хеномелесу ідентифіковано 103 речовини, з яких 7 виявлено в плодах і листі всіх досліджуваних зразків (табл. 1).

Таблиця 1

Леткі сполуки листя і плодів хеномелесу

Речовина	Вміст у сировині хеномелесу (мг/кг) сортів							
	Амфора		Ян		Святковий		Симоні	
	Листя	Плоди	Листя	Плоди	Листя	Плоди	Листя	Плоди
2-Нітропентан	974,7	0,1	982,6	1,2	473,7	1,4	587,6	0,6
Бензальдегід	1605,9	6,7	2058,7	3,7	1047,0	3,0	1897,0	1,9
Транс-ліналоолоксид	7,1	14,8	2,0	6,5	2,2	9,4	4,3	2,3
Цис-ліналоолоксид	12,7	11,3	9,5	4,5	4,7	5,3	12,1	1,5
Пентадекан	2,9	1,8	2,5	2,0	1,5	0,8	1,7	1,3
Гексадекан	2,3	1,6	1,9	1,7	1,3	1,2	2,0	1,9
Нонакозан	16,6	1,8	16,7	0,8	4,7	0,5	27,4	1,5

Таблиця 2

## Леткі сполуки листя хеномелесу

Речовина	Вміст у листі хеномелесу (мг/кг) сортів			
	Амфора	Ян	Святковий	Симоні
Пентанол-2	113.8	99,6	38,0	37,8
Пентанон-2	206.5	87,5	44,9	132,6
Пентанон-3	60.5	25,9	10,6	43,0
Транс-2-гексеналь	19.6	16,3	5,0	14,0
1-Нітропентан		33,9	18,1	13,2
Саліциловий альдегід	1.6	1,5	0,8	1,5
$\alpha$ -Туйон		1,7	0,9	1,0
Бензоїлціанід	87.0	68,2	49,6	90,2
Етилбензоат	30.2	7,5	5,6	14,3
2-етокси-2-фенілацетофенон	13.0	7,5	7,3	12,0
Бензойна кислота	185.1	266,5	82,7	313,1
Тетрадекан	4.7	3,6	2,2	2,8
Оксифенілацетонітрил	133.5	108,1	87,5	49,7
ЕПКК аміловий ефір	9.3	10,0	4,4	9,3
ЕПКК гексиловий ефір	15.2	15,7	6,6	15,7
ЕПКК гептиловий ефір	15.8	16,4	7,5	15,1
Гептакозан	6.1	8,0	3,2	8,9

Таблиця 3

## Леткі сполуки плодів хеномелесу

Речовина	Вміст у плодах хеномелесу (мг/кг) сортів			
	Амфора	Ян	Святковий	Симоні
Фурфурол	17,8	39,4	32,4	86,8
Капронова кислота	0,5	0,7	1,2	1,9
Транс-2-гептеналь	0,3	0,7	1,3	0,9
Ундекан	0,7	0,7	0,8	0,7
5-метилфурфурол	0,7	2,4	1,7	3,0
Ліналоол	3,4	1,9	4,0	2,3
Фенілацетальдегід		1,8	1,2	3,0
Мірценол	4,2	2,2	3,5	1,5
Цис-оцименол	11,0	6,7	10,3	3,7
Транс-оцименол	7,0	3,6	7,7	2,7
Каприлова кислота	2,4	6,1		56,2
1,8-Ментадієн-4-ол	1,3	0,5	0,7	
$\alpha$ -Терпінеол	13,9	1,6	1,6	1,3
$\gamma$ -Терпінеол	7,2	2,7		0,5
<i>p</i> -Цимен-8-ол	0,9	0,6		
<i>p</i> -Мент-1-ен-9-аль	4,7	0,7	1,8	1,6
<i>p</i> -Мент-1-ен-9-аль (ізо)			1,6	1,5
Нонанова кислота	1,0	1,7	0,6	3,7
Транс-2-деценаль	3,2	2,8	3,0	4,3
2,4-декадісналь	0,8	1,0	0,7	0,7
Транс-2-додеценаль	2,1	3,5	2,3	1,9
Лауринова кислота	0,6	1,1		1,4
$\gamma$ -Евдесмол	2,5	1,5	1,6	
Міристинова кислота	2,5	3,2	1,2	1,7
Пальмітинова кислота	9,5			1,5
Лінолева кислота		0,8	1,7	
Сквален	13,5	5,1	4,4	6,2



Як видно з даних *таблиці 1*, вміст бензальдегіду і 2-нітропентану набагато більший у листі хеномелесу, ніж у плодах; ці речовини домінують у складі летких сполук листя хеномелесу – вміст бензальдегіду становить 43–51% суми летких речовин, 2-нітропентану – 16–26% суми летких речовин. Лише в листі хеномелесу ідентифіковано бензойну кислоту (4–8% суми летких речовин), бензоїлціанід (2% суми летких речовин), пентанон-2 (2–6% суми летких речовин), оксифенілацетонітрил (1–4% суми летких речовин) та деякі інші речовини (*табл. 2*). Як маркери листя хеномелесу досліджуваних сортів можна використовувати, наприклад, міристинову кислоту і сквален для листя сорту «Амфора», ліналоол для листя сорту «Святковий», лимонен і амлібензоат для листя сорту «Симоні».

У *таблиці 3* наведено речовини, ідентифіковані тільки в плодах хеномелесу. Основним компонентом серед летких сполук плодів всіх сортів хеномелесу виявився фурфурол – від 17,8 мг/кг у плодах сорту «Амфора» до 86,8 мг/кг у плодах сорту «Симоні». У плодах всіх сортів хеномелесу виявлено також 5-метилфурфурол. 2,5-Фурандіон ідентифікований тільки у плодах сорту

Святковий, а бензотіазол – тільки у плодах сорту Ян.

Серед жирних кислот у плодах усіх досліджуваних сортів хеномелесу ідентифіковано капронову, нонанову й міристинову кислоти.

Серед терпеноїдів у плодах усіх досліджуваних сортів хеномелесу ідентифіковано ліналоол, мірценол, *n*-мент-1-ен-9-аль, сквален, цис- і транс-оцименол,  $\alpha$ -терпінеол; лимонен виявлено лише в плодах сорту Амфора, мегастигматрієнон-4 та мегастигматрієнон-2 – в плодах сорту Симоні, що може бути використано для ідентифікації сировини.

#### Висновки

Визначено якісний склад і кількісний вміст летких сполук листя і плодів хеномелесу.

У плодах і листі хеномелесу ідентифіковано 103 речовини, серед яких 7 виявлено в плодах і листі всіх досліджуваних зразків.

Бензальдегід і 2-нітропентан домінують у складі летких сполук листя хеномелесу, фурфурол – у складі летких сполук плодів хеномелесу.

Визначено речовини-маркери для листя і плодів досліджуваних сортів хеномелесу.

#### Список літератури

1. Чхве Тхэсон. Лекарственные растения / Чхве Тхэсон.; пер. с корейского. – М.: Медицина, 1987. – 243 с.
2. Anti-inflammatory and analgesic activities of *Chaenomeles speciosa* fraction in laboratory animals / X. Li, YB. Yang, Q. Yang et al. // Journal of Medicinal Food. – 2009. – Vol. 12, №5. – P. 1016–1022.
3. Anti-influenza virus activity of *Chaenomeles sinensis* / R. Sawai, K. Kuroda, T. Shibata et al. // J. Ethnopharmacol. – 2008. – Vol. 118, №1. – P. 108–112.
4. Chen O. Effect and mechanisms of glucosides of *Chaenomeles speciosa* on collagen-induced arthritis in rats / O. Chen, W. Wei // Int. Immunopharmacol. – 2003. – Vol. 3, №4. – P. 593–608.
5. Dopamine transporter inhibitory and antiparkinsonian effect of common flowering quince extract / G. Zhao, ZH. Jiang, XW. Zheng et al. // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2008. – Vol. 90, №3. – P. 363–371.
6. Gao H. Antitumor-Promoting Constituents from *Chaenomeles sinensis* Koehne and Their Activities in JB6 Mouse Epidermal Cells / H. Gao, L. Wu // Chem. Pharm. Bull. – 2003. – Vol. 51, №11. – P. 1318–1321.
7. Glucosides of *Chaenomeles speciosa* remit rat adjuvant arthritis by inhibiting synoviocyte activities / M. Dai, W. Wei, YX. Shen, YO. Zheng // Acta Pharmacol. Sin. – 2003. – Vol. 24, №11 – P. 1161–1166.
8. Inhibition of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea by *Chaenomeles speciosa* / JC. Chen, YS. Chang, SL. Wu et al. // J. Ethnopharmacol. – 2007. – Vol. 113, №2. – P. 233–239.
9. Lee MH. Tissue factor inhibitory flavonoids from the fruits of *Chaenomeles sinensis* / MH. Lee, YK. Son, YN. Han // Arch-Pharm-Res. – 2002. – Vol. 25, №6. – P. 842–850.
10. Oru H. Antipruritic effects of the fruits of *Chaenomeles sinensis* / H. Oru, Y. Ueda, K. Ishiguro // Biol. Pharm. Bull. – 2003. – Vol. 26, №7. – P. 1031–1034.
11. Potent neuraminidase inhibitors and anti-inflammatory substances from *Chaenomeles speciosa* / L. Zhang, Y. Cheng, A. Liu et al. // Bio Science Trends. – 2008. – Vol. 2, №4. – P. 135–136.
12. Procyanidin Oligomers from Japanese Quince (*Chaenomeles japonica*) Fruit Inhibit Activity of MMP-2 and MMP-9 Metalloproteinases / M. Streck, S. Gorlach, A. Podsedek, D. Sosnowska // J. Agric. Food Chem. – 2007. – Vol. 55, №16. – P. 6447–6452.
13. Protective effects of *Chaenomeles sinensis* Koehne extract on ethanol-induced liver damage in rat / YM. Lee, JJ. Lee, HD. Shin, MY. Lee // J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. – 2006. – Vol. 35, №10. – P. 1336–1342.
14. Sancheti S. *Chaenomeles sinensis*: a potent A- and B-glucosidase inhibitor / S. Sancheti, SY. Seo // American Journal of Pharmacology and Toxicology. – 2009. – Vol. 4, №1. – P. 8–11.

#### Відомості про автора:

Джан Т.В., мол. науковий співробітник ДУ «Інститут фармакології та токсикології» НАМН України.

#### Адреса для листування:

Джан Тетяна Віталіївна. 01135, м. Київ, вул. В. Чорновола, 14, кв. 20.

E-mail: Zakucilo@gmail.com

Надійшла в редакцію 22.03.2012 р.



О.К. Єренко<sup>1</sup>, О.В. Мазулін<sup>1</sup>, П.А. Логвін<sup>1</sup>, Г.В. Мазулін<sup>2</sup>

## Амінокислотний склад рослинної сировини оману британського у вегетаційний період

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

<sup>2</sup>Державний НДЕКЦ, м. Запоріжжя

### Ключові слова:

високоєфективна рідинна хроматографія, оман британський, амінокислоти, фармакологічна дія.

### Ключевые слова:

высокоэффективная жидкостная хроматография, девясил британский, аминокислоты, фармакологическая активность.

**Key words:** liquid chromatography, *Inula britannica* L., aminoacids, pharmacological activity.

Методом високоєфективної рідинної хроматографії у траві та кореневищах з коренями оману британського встановлено наявність до 17 амінокислот, 7 з яких є незамінними. Найбільший вміст зв'язаних у складі білка та вільних амінокислот встановлено у траві оману британського, відповідно до 12,64±1,15% та 2,10±0,17%. Трава оману британського перспективна для отримання лікарських засобів протизапальної та ранозагоюючої дії.

Методом високоєфективної жидкостной хроматографии в траве и корневище с корнями девясила британского установлено присутствие до 17 аминокислот, 7 из которых незаменимые. Наибольшее содержание связанных в составе белка и свободных аминокислот установлено в траве девясила британского, соответственно до 12,64±1,15% и 2,10±0,17%. Трава девясила британского перспективна для получения лекарственных средств противовоспалительного и ранозаживляющего действия.

In *Inula britannica* L. herb up to 17 aminoacids, among them 7 unsubstituted aminoacids, were revealed by liquid chromatography method. Maximal content of aminoacids sum 12,64 ± 1,15% and 2,10 ± 0,17% was revealed in *Inula britannica* L. herb. The herbal raw material of *Inula britannica* L. are perspective as antiinflammatory and antiphlogistic preparations.

Рід оман (*Inula* L.) родини айстрових (*Asteraceae*) нараховує понад 200 видів, з яких у флорі України представлені більше 30. Рослини найчастіше трапляються та утворюють зарості в Запорізькій, Дніпропетровській, Донецькій, Вінницькій, Хмельницькій, Одеській, Тернопільській і Чернівецькій областях [5,6].

Суттєвий практичний інтерес для медицини становить оман британський (*Inula britannica* L.), що зростає на всій території України (крім високогір'їв Криму та Карпат) по берегах річок і каналів, на луках, як бур'ян вздовж доріг, на засмічених місцях, рідше на полях [5,6,10].

*Inula britannica* L. – багаторічна трав'яниста сіро-зелена або зеленувата рослина, має тонке косо повзуче кореневище. Стебла висхідні або прямостоячі, густо облиствені, 15–18 см висотою, вгорі розгалужені й під кошиками білоповстисті, знизу розсіяном'якоопушені. Листки чергові, цілісні, видовжено- або широколанцетні, коротко загострені, по краю дрібно-зубчасті, рідше кутокраї, зверху голі або розсіяно-волосисті, зісподу густіше вкриті прилеглими волосками і, крім того, дрібними жовтими залозками; нижні до основи поступово звужені в крилаті черешки, серединні верхні – сидячі, напівстеблообгортні, нерідко з вушками. Квітки блідо-жовті, зібрані в невеликі (2,5–3 см у діаметрі) кошики, що утворюють на верхівці стебла нещільне щитоподібне суцвіття; крайові язичкові квітки – жіночі, голі, гладенькі, на верхівці тризубчасті, серединні – двостатеві, трубчасті. Плід – сім'янка. Цвіте у червні-вересні [6,10].

У хімічному складі кореневищ з коренями оману бри-

танського ідентифіковано інулін (30–40%), ефірну олію (до 3%), аскорбінову кислоту, вітамін Е, дубильні речовини, фумарову, оцтову, пропіонову кислоти [4,10]. Траву рослини на вміст біологічно активних речовин на сьогодні майже не досліджували. Є окремі відомості лише щодо наявності ефірної олії, флавоноїдів, β-каротину, дубильних речовин, сесквітерпенового лактону британіну, аскорбінової кислоти (до 45 мг%) [1,6,9].

Застосовують відвар кореневищ з коренями (1:10) видів роду оман при всіх захворюваннях дихальних шляхів, бронхіті, пневмонії, туберкульозі. Настій з трави оману британського (1:10) призначають внутрішньо при скрофулозі, ревматизмі й радикуліті, від кашлю, як спазмолітичний засіб при шлунково-кишкових захворюваннях, зокрема при гастралгії, коліках і проносі. Він є відомим послаблюючим засобом при геморої, має потогінні, відхаркуючі й сечогінні властивості. Зовнішньо використовують як антибактеріальний і в'яжучий засіб у формі компресів, примочок, обмивань і полоскань при гнійних ранах, виразках, лишаях і хворобах горла [5,8].

Під час прийому настою з оману британського посилюється кровообіг у слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту, нормалізується перистальтика кишечника і його секреторна активність. Разом із запальним антисептичним ефектом, а також з властивістю оптимізувати виведення жовчі, рослина надає суттєву допомогу всьому шлунково-кишковому тракту.

Деякі види роду оман використовують у сучасній медицині у складі комплексних фітопрепаратів: «Док-

тор Мом рослинний сироп від кашлю», «Пектосол», «Бронховітол», «Бальзам Бітнера», «Тонзілгон Н», «Кім лонг», «Сік лонг» тощо [2,4,5,8].

Найважливішими біологічно активними речовинами, що синтезують рослини, є комплекс амінокислот, як вільних, так і в складі рослинного білка. Це азотовмісні карбонові кислоти, що одночасно містять аміно- (іміно-) та карбоксильну групу та вуглецевий скелет.

У рослинах протеїни трапляються як протаміни, піс-тони і альбуміни – відносно простіші, розчинні у воді, а також як глобуліни та глутеліни – нерозчинні у воді, але розчинні в розчинах солей, лугів і кислот.

Складні білки становлять комплекс простого білка з небілковим компонентом. Ліпопротеїди, пов'язані з жирами, беруть участь у жировому обміні. Фосфопротеїди задіяні в енергетичних процесах, металопротеїди найчастіше бувають ферментами дихання.

Глікопротеїди (поєднання білків з цукром, або лекти-ни) розташовуються на зовнішніх поверхнях клітин і забезпечують імунітет проти інфекцій, регулюють поділ клітин. Особливе значення мають нуклеопротеїди, що беруть участь у синтезі нових білкових молекул, тобто забезпечують передачу генетичних властивостей і лежать в основі ростових процесів.

Незважаючи на величезне різноманіття білків, усі вони складаються лише з 20 амінокислот, які називають конституційними. Організм людини здатний синтезувати лише 10 амінокислот, решта є незамінними і надходять тільки з їжею (треонін, валін, лейцин, ізолейцин, метіонін, гістидин, триптофан, лізин, аргінін, фенілаланін).

Ці речовини мають надзвичайно велике значення в органічному світі, з них побудовані білкові речовини клітин, ферменти, гормони, а також транспортні, захисні, запасні, скорочувальні сполуки.

Стійкість рослин до несприятливих природних умов істотно підвищують аланін,  $\gamma$ -аміноолійна кислота, пролін, цистеїн.

Амінокислоти необхідні для побудови як білків, так і активних груп ферментів, вітамінів, фітонцидних речовин, ауксинів, флавоноїдів, алкалоїдів, стероїдних сполук, поліфенолів, пігментів [3,5,13].

Амінокислоти у медицині широко застосовуються для парентерального живлення, лікування захворювань травних органів, печінки, анемії, опіків, виразок шлунка, нервово-психічних і епілептичних нападів, фармакологічної корекції порушень органів гепатобіліарної системи [7,11,12].

Визначення складу та вмісту амінокислот у лікарській рослинній сировині та фітопрепаратах має великий науковий і практичний інтерес, зважаючи на їх високу біологічну активність.

#### Мета роботи

Вивчення вмісту вільних і зв'язаних у складі білка амінокислот трави та кореневищ з коренями оману бри-

танського для отримання комплексних фітопрепаратів протизапальної та кровоспинної дії.

#### Матеріали і методи дослідження

Рослинну сировину (кореневища з коренями та обліст-влені верхівки суцвіть довжиною до 30 см) заготовлено у с. Підступне Херсонської обл. у вегетаційний період (червень-липень 2010 р.).

Для підтвердження якісного та визначення кількіс-ного вмісту зв'язаних у складі білка, а також вільних амінокислот, використовували методику, запропоновану Штейном і Муром, на високоефективному рідинному хроматографі моделі ААА 881 (Чехія) [7].

Для визначення зв'язаних у складі білка амінокислот точну наважку подрібненої сировини (близько 0,1 г) піддавали кислотному гідролізу 6 Н розчином хлорис-товодневої кислоти на водяному огрівнику при темпе-ратурі 50°C протягом 24 год, сухий залишок розчиняли в цитратному буферному розчині (рН=2,2).

Розчин вводили в колонки приладу розміром 0,8×60 см (№1) і 0,7×60 см (№2), заповнені катіонітом марки Ostion LGAN.

У якості елюентів використовували цитратні буферні розчини (рН=3,25; 4,25; 5,28) під робочим тиском 14–16 кПа/см<sup>2</sup> (колонка №1) і 4–8 кПа/см<sup>2</sup> (колонка №2).

Вільні амінокислоти визначали без гідролізу білкових сполук.

#### Результати та їх обговорення

Отримані дані вказують на вміст у рослинній сиро-вині оману британського до 17 амінокислот (вільних та у складі білка), 7 з яких (лейцин, ізолейцин, метіонін, лізин, треонін, фенілаланін, валін) є незамінними.

Результати досліджень (табл. 1) свідчать про висо-ку концентрацію зв'язаних у складі білка амінокислот (ізолейцину, лізину, аланіну, лейцину, аргініну) як у траві, так і в кореневищах з коренями в період цвітіння рослини. Вміст лізину в траві складав до 0,61±0,01%, аргініну – 0,61±0,01 %, цистіну – 1,53±0,01%, ізолей-цину – 1,53±0,11%, лейцину – 1,29±0,12%, аланіну – 1,65±0,14%, фенілаланіну – 0,92±0,08%. Накопичення речовин у кореневищах з коренями було суттєво меншим і складало: аргініну – 0,61±0,01%, аланіну – 0,61±0,01%, лізину – до 0,67±0,01%, ізолейцину – 1,53±0,11%, цистіну – 1,53±0,11%, лейцину – 1,59±0,12%.

Загальний вміст вільних амінокислот складав лише від 1,50±0,12% у кореневищах з коренями до 2,10±0,21% у траві рослини. Невисокий рівень вмісту проліну в рослинній сировині свідчить про несприятливість жит-тездатності рослини до дефіциту вологи в природному середовищі [14].

Хімічний склад і вміст замінних і незамінних амі-нокислот свідчить про перспективність використання рослинної сировини оману британського для отримання комплексних фітопрепаратів протизапальної та крово-спинної дії.

**Вміст амінокислот у рослинній сировині оману британського,  
Херсонська обл., с. Підстепне (червень-липень 2010), мг/100 мг (x ± Δ x), μ=6**

Назва амінокислоти	Трава		Кореневища з коренями	
	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані
Аспарагінова кислота	0,11±0,01	0,82±0,07	0,03±0,01	0,14±0,01
Треонін	0,05±0,01	0,27±0,02	0,05±0,02	0,22±0,01
Серін	0,08±0,01	0,37±0,04	0,04±0,01	0,17±0,01
Глутамінова кислота	0,09±0,01	0,29±0,03	-	0,02±0,01
Пролін	-	0,04±0,01	-	-
Цистин	0,12±0,01	0,98±0,08	0,26±0,03	1,53±0,11
Гліцин	0,02±0,001	0,38±0,04	0,02±0,01	0,24±0,01
Аланін	0,29±0,03	1,65±0,14	0,11±0,01	0,61±0,01
Валін	0,16±0,02	0,96±0,08	0,09±0,01	0,67±0,01
Метіонін	0,11±0,01	0,73±0,07	0,03±0,01	0,12±0,01
Ізолейцин	0,18±0,02	1,18±0,11	0,25±0,03	1,53±0,11
Лейцин	0,29±0,03	1,29±0,12	0,25±0,03	1,59±0,12
Тирозин	0,03±0,001	0,37±0,04	0,05±0,01	0,18±0,01
Фенілаланін	0,19±0,02	0,92±0,08	0,07±0,01	0,35±0,01
Гістидин	0,08±0,01	0,80±0,07	0,02±0,001	0,12±0,01
Лізин	0,12±0,01	0,61±0,06	0,11±0,01	0,67±0,01
Аргінін	0,18±0,02	0,98±0,10	0,12±0,01	0,61±0,01
Сума амінокислот	2,10±0,21	12,64±1,00	1,50±0,12	8,77±0,79

### Висновки

1. Досліджено якісний склад і вміст зв'язаних у складі білка та вільних амінокислот у траві оману британського, накопичення речовин у сировині у період цвітіння.
2. Встановлено наявність до 17 амінокислот, 7 з яких є незамінними.
3. Значний вміст амінокислот у рослинній сировині оману британського дозволяє рекомендувати рослину як перспективне джерело для отримання комплексних фітопрепаратів протизапальної та кровоспинної дії.

### Список літератури

1. Багаутдинова Р.И. Фруктосодержащие углеводы растений семейств – локализация и состав / Р.И. Багаутдинова, Г.П. Федосеева, Т.Ф. Окоleshникова // Химия и компьютерное моделирование. Бултеровские сообщения. – 2001. – №5. – С. 13–16.
2. Биологически активные вещества антиязвенного растительного средства «Вентрофит» / П.Б. Лубсандоржаева, Т.А. Ажунова, Л.Н. Шанталова [и др.] // Химия раст. сырья. – 2006. – №1. – С. 59–64.
3. Володимирець В.І. Біохімія рослин: Інтерактивний комплекс навчально-методичного забезпечення / В.В. Володимирець. – Рівно: НУВГП, 2006. – 127 с.
4. Клочков С.Г. Изучение сесквитерпеновых лактонов растений рода *Inula* L. как основы для разработки новых антинеопластов с проапоптотическим действием / С. Г. Клочков, С. В. Афанасьева, И. С. Зефиоров // Технология жировых систем. – № 5 - 6. - 2008. - С. 120 - 125.
5. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині: навч. посіб. / А.Я. Кобзар. – К.: Медицина, 2007. – 543 с.
6. Лікарські рослини: Енциклопедичний довід. / За ред. А.М. Гродзінського. – К.: Українська енциклопедія, 1992. – 543 с.
7. Мазулін А.В. Аминокислотный состав – важнейшая характеристика биологической активности лекарственного сырья / А.В. Мазулін, Н.А. Калошина, О.Н. Денисенко // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики: зб. наук. ст. – Запоріжжя: Вид-во ЗДМУ, 1999. – Вип. IV. – С. 36–38.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства: 14-е изд., перераб. и доп. / М.Д. Машковский – М.: ООО «Издательство Новая волна», 2002. – Т. 1. – 540 с.
9. Методика количественного определения суммарного содержания полифруктанов в корневищах и корнях девясила высокого (*Inula helenium* L.) / Д.И. Оленников, Н.М. Талхаева, Г.В. Чехилов, Е.В. Петров // Химия раст. сырья. – 2008. – №1. – С. 95–99.
10. Палов М. Энциклопедия лекарственных растений / М. Палов; пер. с нем., предисл. И.А. Губанова – М.: Мир, 1998. – 468 с.
11. Раевский К.С. Медиаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрхимические аспекты / К.С. Раевский, В.Л. Георгиев. – М.: Медицина, 1986. – С. 56–68.
12. Филиппова Г.Г. Основы биохимии растений / Г.Г. Филиппова, И.И. Смолин. – Минск: БГУ, 2004. – 136 с.
13. Цвелев Н.Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России / Цвелев Н.Н. – СПб.: Изд-во СПУВА, 2000. – 781 с.
14. Gershenson J. Plant secondary metabolite production under stress // Phytochemical adaptation to stress. – N.Y., L.: Plenum Press, 1984. – P. 273–321.

### Відомості про авторів:

Єренко О.К., 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.  
Логвін П.А., к. фарм. н., ст. викладач каф. фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.  
Мазулін Г.В., к. фарм. н., експерт-криміналіст НДЕКЦ УМВС України в Запорізькій області, провізор.

### Адреса для листування:

Єренко Олена Костянтинівна. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.

Тел.: (0612) 34 23 31. E-mail: Profesor87@mail.ru

Надійшла в редакцію 14.12.2011 р.



О.М. Кошовий<sup>1</sup>, Б.А. Виноградов<sup>2</sup>, А.М. Ковальова<sup>1</sup>, А.М. Комісаренко<sup>1</sup>

## Терпеноїдний склад листя деяких видів шавлії України

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

<sup>2</sup>Національний інститут винограду і вина «Магарач», АР Крим

**Ключові слова:** терпеноїди, листя, шавлія, рід *Salvia*.

**Ключевые слова:** терпеноиды, листья, шалфей, род *Salvia*.

**Key words:** terpenoids, leaves, genus *Salvia*.

Вивчено хімічний склад летучих фракцій листя 16 видів роду *Salvia*, розповсюджених на території України. В досліджуваних об'єктах виявлено 185 речовин, 114 з яких ідентифіковано. В листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. glutinosa*, *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. Nutans*, *S. Austriaca*, *S. verticillata* та *S.cernua* виявлено 28, 34, 35, 29, 47, 47, 47, 57, 31, 57, 37, 33, 32, 30, 35 та 37 речовин відповідно. Найбільший вміст терпеноїдів відзначено в листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. aethiopsis* і *S. pendula*, що вказує на доцільність вивчення цих видів для створення нових лікарських засобів.

Изучен качественный состав и количественное содержание летучей фракции листьев 16 видов рода *Salvia*, распространенных на территории Украины. В исследуемых объектах обнаружены 185 веществ, 114 из которых идентифицированы. В листьях *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. glutinosa*, *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. Nutans*, *S. Austriaca*, *S. verticillata* та *S.cernua* определены 28, 34, 35, 29, 47, 47, 47, 57, 31, 57, 37, 33, 32, 30, 35 и 37 веществ соответственно. Наибольшее содержание терпеноидов наблюдали в листьях *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. aethiopsis* и *S. pendula*, что указывает на целесообразность изучения этих видов для создания новых лекарственных средств.

The qualitative composition and quantitative contents of flying factions from sixteen genus *Salvia* species leaves, growth in Ukraine, were studied. At all 185 substances were discovered in the object, which were studied, 114 from which are identified. In *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. glutinosa*, *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans*, *S. austriaca*, *S. verticillata*, *S.cernua* leaves were discovered 28, 34, 35, 29, 47, 47, 47, 57, 31, 57, 37, 33, 32, 30, 35 and 37 substances accordingly. The Most contents of terpenoids exists in *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. aethiopsis* and *S. pendula* leaves that points to practicability of the study these species for making the new herbal drugs.

Упошуках ефективних засобів боротьби з інфекційними хворобами, що, за даними ВООЗ (WHO, 2010), посідають друге місце у світі за рівнем смертності, одним із найбільш перспективних напрямків є впровадження препаратів, які поряд з антибактеріальною дією виявляють також імуномодельючу активність, що характерно для рослинних засобів, зокрема представників роду *Salvia*.

Препарати з листя шавлії здавна використовували як антимікробні та протизапальні засоби. Однак з усього різноманіття цього роду використовують лише листя шавлії лікарської та ш. мускатної, хімічний склад яких досить добре вивчено. Офіційальною сировиною в нашій країні є листя шавлії лікарської (*S. officinalis*) [1], з якого отримують ефірну олію, настоянку, ацетоновий екстракт «Сальвін». З листя ш. мускатної (*S. sclarea*) також отримують ефірну олію, що характеризується широким спектром антимікробної дії [2,4,5]. Рід шавлія *Salvia* налічує близько 600 видів, з них на території України трапляється 30 [3,5,6].

### Мета роботи

Вивчити хімічний склад летучої фракції деяких представників роду *Salvia*, що зростають на території України, для встановлення можливості створення нових антимікробних засобів з цієї сировини.

### Матеріали і методи дослідження

Об'єкт досліджень – листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. glutinosa*, *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans*, *S. austriaca*, *S. verticillata* та *S.cernua*, зібране влітку 2010 року на території АР Крим та Запорізької області.

Для отримання ефірної олії з досліджуваної сировини застосовано метод, що дозволяє виділити ефірну олію з невеликої кількості рослинної сировини [7]. Для відгону використано віали «Agilent» на 22 мл (part number 5183-4536) з відкритими кришками і силіконовим ущільненням. Наважку 2,0–3,0 г рослинного матеріалу вміщували у віалу, заливали водою до половини об'єму. Віалу закривали кришкою з повітряним холодильником та кип'ятили протягом години на піщаній бані. Для запобігання втрат мікрокількості ефірної олії, адсорбованої на внутрішній поверхні холодильника, двічі змивали 1–2 мл петролейного ефіру, змиви збирали у віалу.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту терпеноїдів проводили методом ГХ за допомогою газового хроматографа Agilent Technology 6890 (ГХ) з мас-спектрометричним детектором 5973 (МС) [1]. Для аналізу використовували колонку HP-5 довжиною 30 м

Таблиця 1

Хімічний склад летучої фракції листя деяких видів роду *Salvia*

Речовина	Час утримання, хв	Кількісний вміст (мг/100г) в листі:															
		<i>S. officinalis</i>	<i>S. grandiflora</i>	<i>S. scabrofolia</i>	<i>S. glutinosa</i>	<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>	<i>S. verticillata</i>	<i>S. cernua</i>
Метилантарний ангідрид	4,06					6,9											
Нонан	4,15				0,9	1,0									0,5		
Цис-сальвен	4,18	3,5															
Транс-сальвен	4,35	0,6															
α-пінен	4,62	273	3256	15,9		0,4	0,1	0,4		2,8		0,4		3,8			
Транс-2-гептеналь	4,64					1,2	0,3										
2,4(10)-туйядієн	4,75			4,7													
Камфен	4,80	476	745	54,8				0,6		0,4		0,2		1,3			
Сабінен	5,38			38,1													
β-пінен	5,40		1782	37,9				0,2		1,2				0,5			
Трициклен	5,69	12															
α-туйєн	5,81	19															
Етилкапронат	5,84							0,1			0,4						
Декан	6,18				1,3	1,3	1,1	0,6	0,4	0,7	1,6	0,3	0,4	1,1	0,4	0,7	
Парацимен	6,42	33	527	32,4	4,8				8,4		42,1				0,5		
1,8-цинеол	6,60	157,1	514	56,6			1,4	0,2	0,1		0,4		0,2	0,6	0,1	0,7	
Лімонен	6,65		302	9,4	0,4			0,3	0,1		0,1		0,1	0,4	0,1	0,3	
*	6,66			93,9													
Цис-2-гексен-1-ол ацетат	7,13				0,6				0,7		0,7	0,4		0,5		0,5	
Октен-1-ил ацетат	7,17							0,4									0,7
*	7,38		39														
Мірцен	7,55	138															
Транс-ліналолоксид	7,65		42									0,3		0,5			
Транс-сабіненгідрат	7,68			32,7													
Транс-гексен-1-ол ацетат	7,74								0,5		0,9	0,5		0,4			
Цис-ліналолоксид	8,06	25	51														
Дегідропарацимен	8,12								0,5		4,1						
Пара-α-диметилстирен	8,19			6,6													
α-піненоксид	8,21		45														
α-терпінен	8,31	60															
Нонаналь	8,44					3,7	0,7		0,6				0,3				0,1
2,6-диметилциклогексанол	8,46											0,6					
*	8,49													1,3			
Цис-сабіненгідрат	8,54			26,9								0,5					
β-туйєн	8,76	1199							0,2		1,1						
α-туйєн	8,83	6208		3,4													
Ундекан	8,95			3,6	3,9	4,4	2,0	2,2	0,8	2,7	2,2	1,0	1,3	1,0	3,7		2,6
Камфора	9,43	3668	1461	313,1							1,2				0,5		
Транс-пінокарвеол	9,53		331														
*	9,55					2,6		1,0						1,2			

*	9,87			12,7													
Пінокарвон	9,95		42,7							0,8							
Борнеол	10,39	82,2	81,6														
$\alpha$ -феландрен- непоксид	10,57			13,3													
Терпінолен	10,59	2,7															
Ментол	10,78											1,0					
Миртеналь	10,85	3,3	12,5														
Парацимен- 8-ол	10,86				1,8				1,9		5,6						
Миртенол	11,28		10,6						0,2								
Деканаль	11,57					1,2	0,3		0,3								
Додекан	12,07				3,6	4,1	1,7	2,0	0,9	2,8	12,1	0,8	1,2	0,9	3,6	1,5	2,3
*	12,22			78,7													
Пінокамфон	13,06	2,1															
Транс-2- деценаль	13,27					7,5	1,2	3,8	2,7		2,2						
Терлінен-4ол	13,70	18,0															
$\alpha$ -терпінеол	14,16	5,0															
*	14,73		16,1														
$\alpha$ -іланген	17,10		29,9														
Борнілацетат	17,23	44,0															
$\alpha$ -копаєн	17,29		60,1														
$\beta$ -бурбонен	17,43		7,7	96,7													
Сабінілацетат	17,45	7,0															
Каріофиллен	18,31	22,7	7,7														
Тетрадекан	18,33				122	19,5	6,5	9,7	3,5	9,9	7,1	4,7		3,4	146	6,2	11,4
$\alpha$ -кубебен	18,46		24,1														
*	18,74		15,5														
*	19,90						1,0	0,8	1,1								
$\alpha$ -аморфен	19,82		92,2														
*	19,95		17,0			2,7					1,2					2,4	
Дигідро- актиндіолід	20,15											5,7				2,4	
$\alpha$ -мууролен	20,28		9,3														
$\gamma$ -кадінен	20,54		12,8								1,5						
Каламенен	20,64		28,3														0,6
Пентадекан	20,65					3,9	1,7	1,5	1,1	1,7	2,3	1,1				1,9	1,5
*	21,45		20,9														
1,5- епоксисаль- віаль-4(14)-єн	21,46													6,3			
Каріо- філеноксид	21,67	26,7	12,2													7,0	
Спатуленол	21,69			55,1		4,1											
Сальвіаль- 4(14)-єн-1он	21,89													2,1			1,7
Віридіфлорол	21,93		10,9														
*	22,13		6,7														
Гексадекан	22,53					2,9		1,3	1,0								
*	22,68		16,4														
Гвайазулен	23,26		27,6														
Гумулен	23,58	38,0															
Гептадекан	24,14					2,7		2,3	1,7		1,5		1,1			5,9	1,6
Пристан	24,29								1,6		1,4						
*	24,33					3,3											
Нор-фітан	24,48							1,8									
Тетрадеканова к-та	25,09								2,3								
Октадекан	25,58					2,6		1,6		1,7			1,4				1,0
*	25,63		5,1										4,0				
Фітан	25,76							3,0	2,4								
*	25,81					6,1				5,6							

Продовження таблиці 1

Гексагідро-фарнезил-ацетон	25,98				4,9	10,1	7,1	6,1	12,3	6,3	9,1		10,9		8,9	3,9
Цис-неофітадієн	26,06					2,7	3,1	7,5	3,6	16,9	9,7	3,0	5,8		3,9	5,9
Гумуленоксид	26,36	29,3														
Цис, транс-неофітадієн	26,42									3,6	1,9					0,7
Транс-неофітадієн	26,61							2,2		6,1	3,3	0,9	3,8			1,6
Нонадекан	26,91						1,2				1,2	0,8			1,2	0,9
*	26,96								1,5							
Ейкозен-3	26,98					4,5	2,7					3,8	8,9			
*	27,03				10,3				2,0	3,8					11,6	
Пальмітинова к-та	27,87					23,0	12,5	13,4		28,9						
Етил-пальмітат	27,92							1,6			7,9					
Епі-маноїлоксид	28,01					2,1	1,7			1,8						
Ейкозан	28,15					2,3	2,1	2,3		3,1	2,8	1,6	3,3			
Лінолева к-та	28,32							3,6								
Маноол	28,48	55,2	12,2													
*	28,85				26,6											
Хенейкозан	29,31		8,3		19,5	5,1	4,5			6,5	6,5	3,5	7,4	8,0	8,2	5,4
*	30,26					7,1										
Докозан	30,43		12,3		15,3	6,2	3,0	2,0	2,8	6,6	17,1	2,1	6,6	8,9	10,4	6,3
*	30,63							5,9								
*	31,21												41,7			26,7
Дигідро-абістинова к-та	31,45						0,6									
Трикозан	31,50		24,2		17,8	6,9	2,7	2,0		5,9	5,5	2,0	7,0	13,3	11,0	8,2
Метил-дигідроабістат	31,51												4,0			
4,8,12,16-тетраметил-гептадекан-4-олід	31,73						1,4		6,5							
*	31,83					6,2										
*	32,33												22,5			
Тетракозан	32,52		27,6	1,6	22,8	5,2	2,1	1,9	2,4	8,4	5,6	1,6	5,6	15,4	10,7	5,6
*	32,85									7,1						
Пентакозан	33,5		19,0	3,2	22,3	5,7	3,1	2,1	2,6	7,7	5,8	1,4	4,2	24,7	8,4	3,2
*	33,88												7,9			
*	34,00												3,7			
Гексакозан	34,45		9,4	5,7	17,4	4,5			2,8	6,5	4,0	0,7	2,3	12,2	6,9	
*	33,48															7,7
Гептакозан	35,38		8,2	17,5	31,8	15,5	7,6	4,8	7,2	11,4	12,5	2,8	15,0	63,7	9,7	5,4
13-докозенамід	35,86			16,5												
*	36,25					4,9								33,2		
Октакозан	36,26			6,3			1,3								5,4	
*	36,31													47,3		
*	36,45						4,4							59,1		
*	36,54								24,2							
*	36,65						3,8									
*	36,74								22,2							
Нонакозан	37,13		28,1	5,6	50,2	38,3	17,0	17,2	30,5	42,4	64,3	12,3	33,1	113,4	49,3	22,6
*	37,31													20,4		
*	37,49													21,6		



*	37,73				9,6		4,7										
*	37,84				3,7												
*	37,94						7,9	4,2	3,2								
*	38,02					9,2				11,1	12,2					7,0	9,7
*	38,24						4,9	5,5									
*	38,32				32,4	13,3				8,6	12,2	15,1					6,5
*	38,4											7,0					20,7
5-окси-6,7- диметокси- 3-(4- метоксифеніл)- 4Н-1-бензо- піран-4-он	38,44		16,1			28,3	15,2	22,4	13,0	56,2	13,8	82,7	36,5	166,1	18,3	113,9	210,3
*	38,52										8,8						
Стігмастан- 3,5-дієн	38,53									21,3							
Триаконтан	38,55				5,8							14,9				6,6	7,5
*	38,68					34,7											
Гентриакон- тан	38,75		75,1	103,3	160,2	45,6	48,9	40,0	107,6	63,2	191,3	39,7	116,1	76,3			14,3
*	39,21										5,9						
*	39,38								2,9								
*	39,45				8,5	51,1											
Дотриаконтан	39,51		12,2	11,2	61,3	19,2	11,4	10,9	28,8	35,6	37,7	13,3	16,6	13,4	4,6		7,7
*	39,54						6,1										
*	39,73							4,8	7,3								
*	39,83				6,4												
*	39,99												9,6		21,0		
γ-сітостерол	40,09						13,7	12,9		17,7	11,7		14,7		36,4	12,6	11,7
*	40,13				6,1	63,8	8,4			15,3	17,4	20,7					
*	40,21				5,8				9,7								
Тритриакон- тан	40,28		122,8	70,2	388,7	74,2	41,4	44,3	133,2	116,2	230,0	93,6	75,3	52,4	67,1		51,2
*	40,34						18,7										
*	40,44						10,4										
Олеан-18-єн	40,60								64,9								
*	40,68							13,8									6,6
*	40,78									20,6							
Ізоолеан- 18-єн	40,83								38,5		8,2					6,7	
*	40,95					10					6,1						
*	41,04				8,5				9,3		6,3						
Тетратриа- контан	41,12					100,5							8,6				
*	41,27		23,0			25,9					7,0	33,7					
*	41,58				21,0												
*	41,65								6,9								
*	41,86					19,8				14,6	4,5	61,5					
*	42,09					13,1	4,5										
*	42,26					30,4	10,0				13,7						
*	42,46						7,1			4,3			69,3				
*	42,58						14,2	25,8					12,6				
*	42,71					12,3	5,5		9,3		10,8			21,3		13,1	12,0
*	43,00					11,3	4,8	10,9									
*	44,86								4,3								

Примітка: \* – речовина не ідентифікована.

та внутрішнім діаметром 0,25 мм. Аналіз проводили за таких умов: температуру термостату програмували від 50°C до 250°C зі швидкістю 4°C/хв; температура інжектора – 250°C; газ-носії – гелій, швидкість потоку – 1 мл/хв; переніс від ГХ до МС прогрівали до 230°C; температуру джерела підтримували на рівні 200°C; електрону іонізацію проводили при 70 eV у ранжировці мас m/z 29 до 450. Ідентифікацію здійснювали на основі

порівняння отриманих мас-спектрів з даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500 000 мас-спектрів). Індеси утримання компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів сполук з додаванням суміші нормальних алканів (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>). Кількісний вміст кожного компонента (у мг/100 г сировини) визначали в порівнянні з кількістю стандарту.

### Результати та їх обговорення

Результати аналізу хімічного складу летучої фракції листя деяких видів роду *Salvia* наведено в таблиці 1.

Вихід ефірної олії розраховували за сумою усіх площ на хроматограмі. Вміст ефірної олії в листі *S. officinalis* складає 1,85%, в листі *S. grandiflora* – 1,45%, у листі *S. scabiosifolia* – 1,41% та в листі *S. glutinosa* – 0,43%, *S. aethiopsis* – 1,35 %, *S. pratensis* – 0,44%, в листі *S. stepposa* – 0,32%, у листі *S. Sibthorpii* – 0,38% та в листі *S. illuminata* – 0,58%, *S. nemorosa* – 0,62%, *S. pendula* – 0,92%, *S. sylvestris* – 0,28%, *S. nutans* – 0,61% та *S. austriaca* – 0,69%, *S. verticillata* – 0,43% та *S.cernua* – 0,47%. Найбільший вміст терпеноїдів відзначено в листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. aethiopsis* та *S. pendula*.

У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*,

*S. glutinosa*, *S. aethiopsis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans*, *S. austriaca*, *S. verticillata* та *S.cernua* виявлено 28, 34, 35, 29, 47, 47, 47, 57, 31, 57, 37, 33, 32, 30, 35 та 37 речовин відповідно. Загалом у досліджуваних об'єктах виявлено 185 речовин, з яких 114 ідентифіковано.

### Висновки

Вивчено хімічний склад летучих фракцій листя 16 видів роду *Salvia*, розповсюджених на території України. У досліджуваних об'єктах виявлено 185 речовин, 114 з яких ідентифіковано. Найбільший вміст терпеноїдів відзначено в листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. aethiopsis* та *S. pendula*, що вказує на доцільність вивчення цих видів для створення нових лікарських засобів.

### Список літератури

1. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
2. Дослідження ізопреноїдного складу та антимікробної активності густого екстракту листя шавлії лікарської / О.М. Кошовий, Є.О. Передерій, Т.П. Осолодченко, А.М. Ковальова, А.М. Комісаренко // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, №1. – С. 26–29.
3. Комарова В.Л. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. – СПб.: Наука, 1991. – С. 72–83.
4. Перспективи створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської / О.М. Кошовий, Є.О. Передерій, О.П. Гудзенко, А.М. Ковальова, А.М. Комісаренко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – №1. – С. 33–35.
5. Фармацевтична енциклопедія / Під ред. В.П. Черних. – 2-ге вид. – К.: «МОРІОН», 2010. – С. 1598.
6. Флора СССР / Под ред. Б.К. Шишкина. – М.: Издательство академии наук СССР, 1954. – Т. XXI. – С. 244–374.
7. Черногород Л.Б. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea L.*, содержащие фразанол / Черногород Л.Б., Виноградов Б.А. // Растит. ресурсы. – 2006. – Т. 42, вып. 2. – С. 61–68.

### Відомості про авторів:

Кошовий О.М., к. фарм. н., доцент каф. хімії природних сполук НФаУ.  
Виноградов Б.О., провідний інженер відділу біологічно активних сполук винограду і вина Національного інституту винограду і вина «Магарач».

Ковальова А.М., д. фарм. н., професор каф. фармакогнозії НФаУ.

Комісаренко А.М., д. фарм. н., професор каф. хімії природних сполук НФаУ.

### Адреса для листування:

Кошовий Олег Миколайович. 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, каф. хімії природних сполук НФаУ.

Тел.: (0572) 67 93 63.

E-mail: oleg\_koshevoy@mail15.com

Надійшла в редакцію 20.02.2012 р.



С.В. Панченко<sup>1</sup>, Л.М. Сіра<sup>2</sup>, В.Г. Корнієвська<sup>1</sup>, Ю.І. Корнієвський<sup>1</sup>

## Дослідження анатомічної будови надземних органів *Valeriana grossheimii* Worosch

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** анатомічна будова, листя, валеріана Гроссгейма.

**Ключевые слова:** анатомическое строение, листки, валериана Гроссгейма.

**Key words:** anatomical structure, leaves, *Valeriana grossheimii* Worosch.

Вперше здійснено дослідження особливостей анатомічної будови надземних органів валеріани Гроссгейма родини валеріанові, в результаті якого виявлено їх характерні мікроскопічні діагностичні ознаки. Встановлені мікродіагностичні ознаки дають можливість ідентифікувати лікарську рослинну сировину і можуть бути використані для розробки проекту АНД.

Впервые проведено исследование особенностей анатомического строения надземных органов валерианы Гроссгейма семейства валериановые, в результате которого выявлены их характерные микроскопические диагностические признаки. Установленные микродиагностические признаки дают возможность идентифицировать лекарственное растительное сырье и могут быть использованы для разработки проекта АНД.

The first time the study of the peculiarities of the anatomical structure of the overground organs *Grossheim valerian* valerian family, which have been identified characteristic mikrodiagnostical overground organs. Establishing mikrodiagnostic signs allow us to identify herbal drugs can be used to develop a draft of the AND project.

До прадавніх і найбільш популярних лікарських рослин належить валеріана лікарська (*Valeriana officinalis* L.s. I.). Корені використовують для профілактики і комплексного лікування нервово-психічних розладів [2,3,6,8,10]. На території України збірний вид *Valeriana officinalis* L. s.l. об'єднує 14 видів [6]. Серед них найширше розповсюджені в пагоносна – *V. stolonifera* Czern. та в. бульбиста – *V. tuberosa* L., зрідка у Сумській і Харківській областях трапляється в. руська – *V. rossica* Smirn., у плавнях Сіверського Донцю виявлена в. донська – *V. tanaitica* Wogosch, 6 видів зростають у Карпатах і на Прикарпатті, а в. Гроссгейма – *V. grossheimii* Worosch – ендемік гірських місцевостей АР Крим [1,6,9].

Як і офіційна сировина (кореневище з коренями), для комплексного використання пропонується її тра-

ва, яку здавна використовували в народній медицині [9]. Аналіз даних спеціалізованої літератури свідчить про відсутність систематизованих відомостей про морфолого-анатомічну будову різних, зокрема надземних, органів цієї рослини, зібраних у період вегетації або в різних географічних пунктах зростання [6].

Валеріана Гроссгейма (*Valeriana grossheimii*) родини *Valerianaceae* – багаторічна трав'яниста рослина, кистекоренева, без стонів, з відносно товстими придатковими коренями. Стебло 90–120 см заввишки, в нижніх меживузлях короткоопушене. Листя непарноперисте, з 7–10 парами ланцетних або яйцевидно-ланцетних гострорізкозубчатих долей. Суцвіття – плейотирс, з сильно розгалуженими нижніми паракладіями, що сильно розростаються, гілки дуговидні, до 15 см завдовжки.

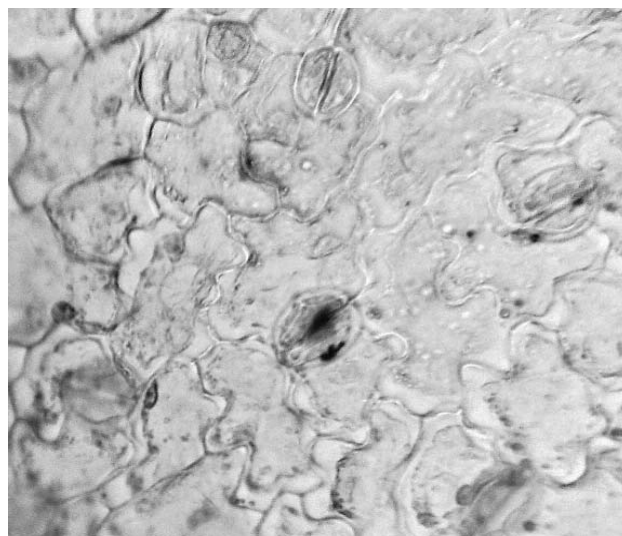
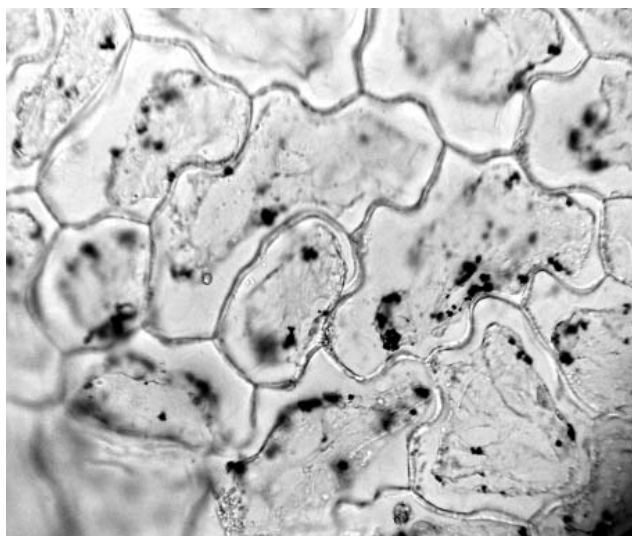


Рис. 1. Верхня і нижня епідерми сегментів листкової пластинки.

Приквітники яйцевидно-ланцетні, 2–3 мм завдовжки, по краю з рідкими простими волосками; вінчики білі або світло-рожеві, 4,5–5,5 мм завдовжки. Плоди 4,1 мм завдовжки, з 8–12-променевим хохолком і вузькою каймою по краю, опушений короткими, 0,1 мм завдовжки, волосками.

Аналіз джерел спеціалізованої літератури свідчить про відсутність систематизованих даних щодо анатомічної будови *V. grossheimii* Worosch. Водночас, морфолого-анатомічні дані можуть бути використані у філогенетиці виду і роду для з'ясування діагностичних і вікових ознак рослини. Це спонукало нас до мікроскопічних досліджень надземних органів.

#### Мета роботи

Вивчення анатомічної будови надземних органів *V. grossheimii* Worosch та встановлення мікроскопічних діагностичних ознак, важливих для ідентифікації рослинної сировини.

#### Матеріали і методи дослідження

Надземні органи валеріани Гросгейма заготовляли у фазу цвітіння (АР Крим, Кримський заповідник, Альмінське лісництво) 2010 р. Анатомічну будову вегетативних органів та їх частин аналізували на поперечних зрізах, відпрепарованій епідермі та препаратах з поверхні. Використовували мікроскоп МС 10, фотокамеру Samsung PL50 [7,11].

#### Результати та їх обговорення

**Листок (рис. 1,2).** Досліджено поверхневі мікропрепарати черешка, різних частин листової пластинки, епідерму з поверхні, а також поперечні зрізи листової пластинки, головної жилки та черешка.

**Сегменти листової пластинки.** Верхня епідерма крупноклітинна, без продихів, оболонки базисних клітин хвилясті. Нижня епідерма з дрібнішими, звивистостінними базисними клітинами та продихами аномоцитного типу, біля продихових епідермальних клітин найчастіше 4. По краю сегментів епідермальні клітини великі, з потовщеними, кутинізованими оболонками і шаруватою кутикулою.

На поверхні пластинки, над жилкою, по краю та на верхівці зубців пластинки системно, але не часто, трапляються прості й залозисті трихоми (рис. 2).

Прості волоски (рис. 2,3) живі, одноклітинні, тупоконічні, спрямовані до верхівки долей чи сегментів пластинки. Оболонка клітини дуже потовщена, целюозна, порожнина заповнена сіруватим зернистим вмістом. Базальна частина волоска клиноподібно занурена у дещо підведену розетку-«постамент», утворену кількома прямокутними товстостінними мертвими клітинами.

Залозисті трихоми (рис. 4) менш рясні, частіші на нижній епідермі. Голівка овальна або циліндрична, дворядно-ярусна, з 2,-4,-8-секреторних клітин, заповнених коричневою речовиною. Ніжка добре помітна, одно-

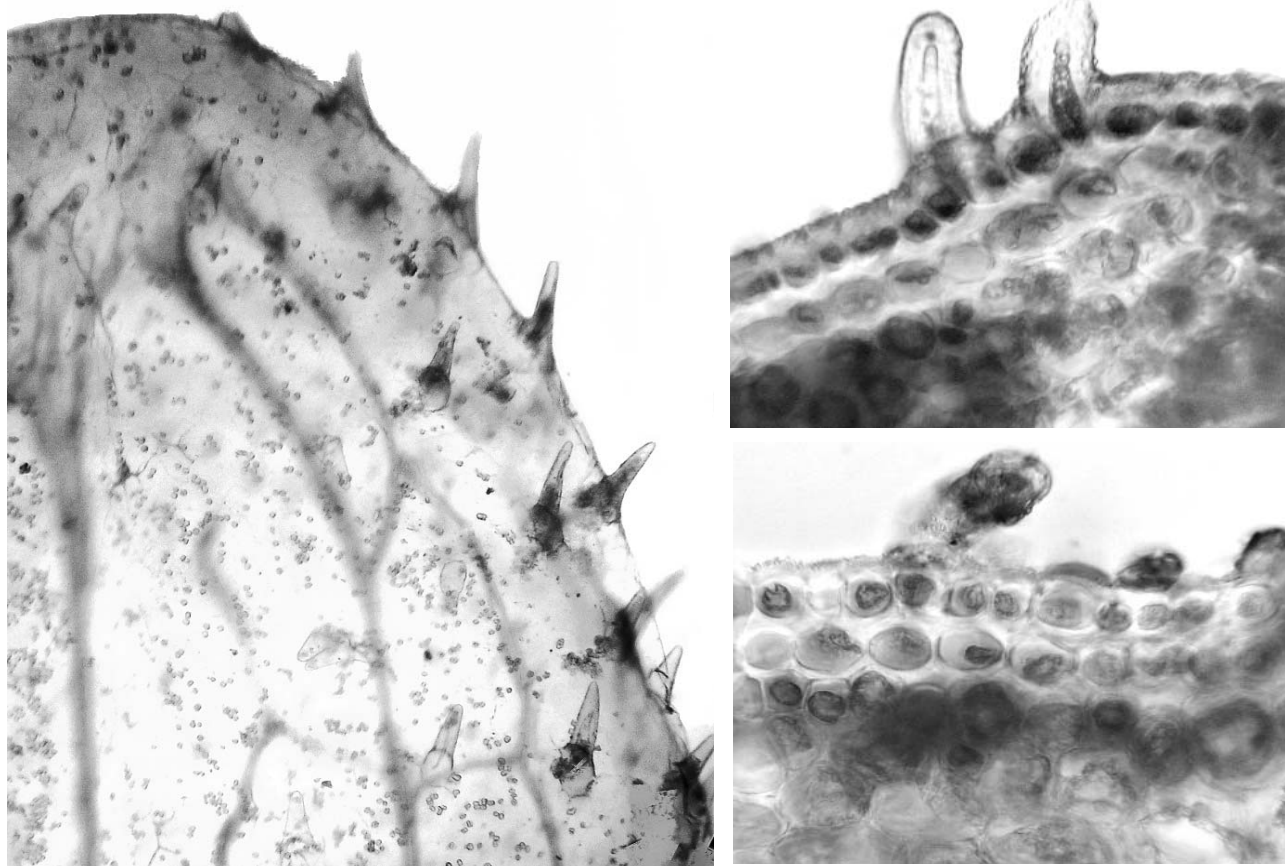


Рис. 2. Листкова пластинки з поверхні та по краю.

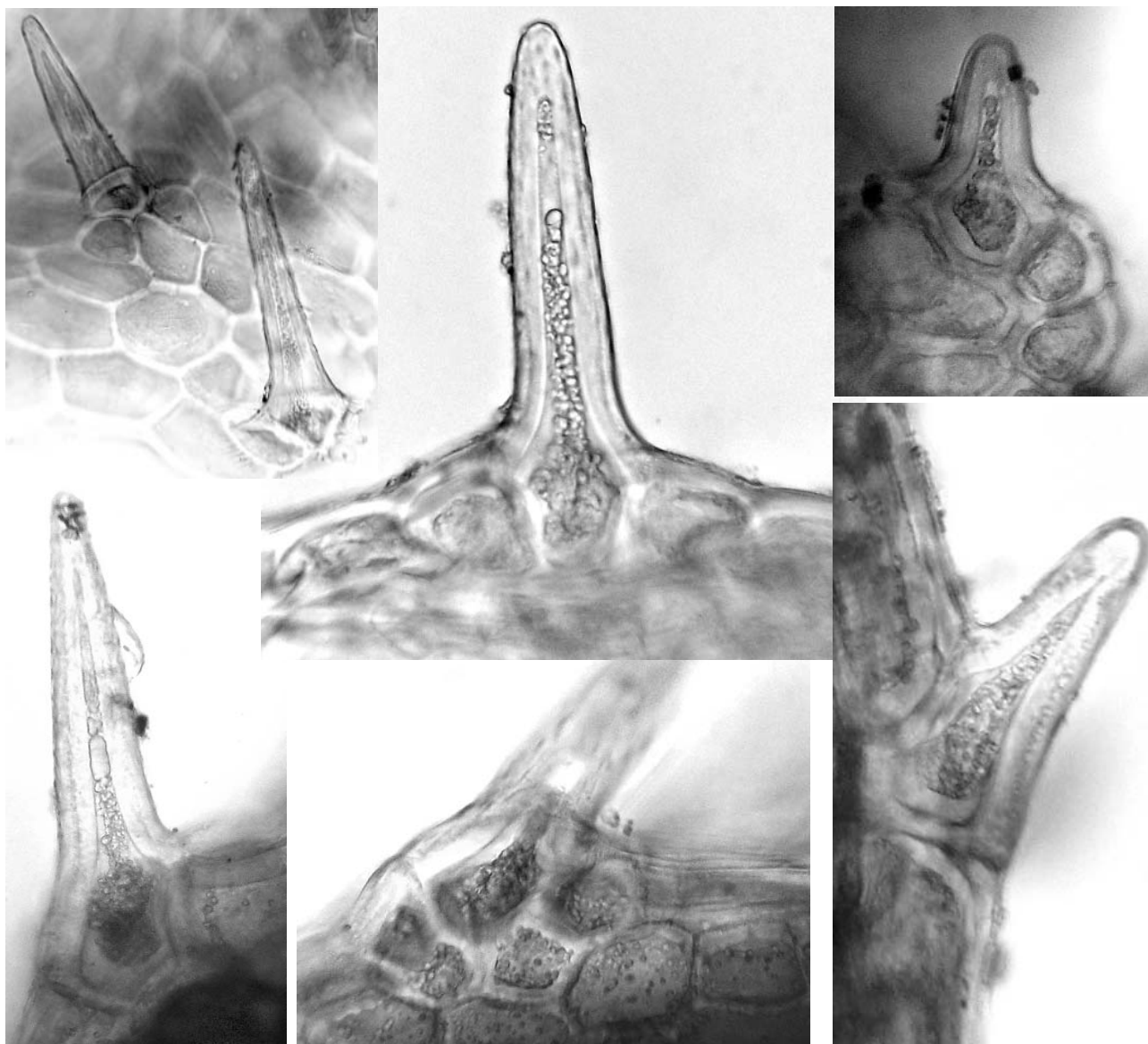


Рис. 3. Прості волоски.

клітинна, циліндрична зазвичай зігнута, з потовщеним валиком при основі, що зберігається після обламування трихоми.

*Головна жилка, рахіс і черешок листка.* За формою січення, будовою й типом провідної системи подібні: білатеральні, виповнені, з виїмкою з адаксіальної сторони. Поперечні зрізи (рис. 5,6) від U-образних до широко V-образних, крилатих. Вони несуть 13–15 розвинутих провідних пучків, розміщених в один ряд. У напрямку крил їх розміри зменшуються, інколи спостерігаються дрібніші пучечки, які проходять самостійно або приєднуються до більших пучків. За типом будови пучки перехідні від колатеральних у формі півмісяця чи місяця, до амфікрибральних. Найчастіше з адаксіальної сторони масив радіально-променевої ксилеми перериває невеличка діляночка паренхіми.

*Загальний вигляд поперечних зрізів*

Провідні пучки оточені 1–3-шаровою ендодермою, волокна якої у поперечнику кутасті, мають потовщені,

пористі, частково лігніфіковані оболонки. Ендодерму підстеляє 2–3-шарова облямовуюча паренхіма. Її клітини витягнуті вздовж пучка, у поперечнику округлі, без хлоропластів і кристалів, з тонкими оболонками. Флоема кільцева, дрібноклітинна, межує з вузькими спіральними судинами прокамбіальної ксилеми (рис. 7). Вторинні судини з більшими просвітами, пористі, утворюють щільні промені, відділені один від одного паренхімою.

Епідермальні клітини абаксіальної сторони черешка (рис. 8) вузькі, видовжені, однорідні, продири відсутні. Епідерма адаксіальної сторони (внутрішньої, верхньої, оберненої до стебла) складається з ширших і коротших клітин, серед яких трапляються секреторні ідіобласти у формі паралелепіпеду, з потовщеною пористою оболонкою і буруватим вмістом. Подекуди на верхній стороні черешка трапляються багатоклітинні субепідермальні емергенції (рис. 6), які сферою виступають над поверхнею. Зовнішні клітини сфери щільні, сплюснені, з мало потовщеними, опробковілими оболонками. Клітини, що

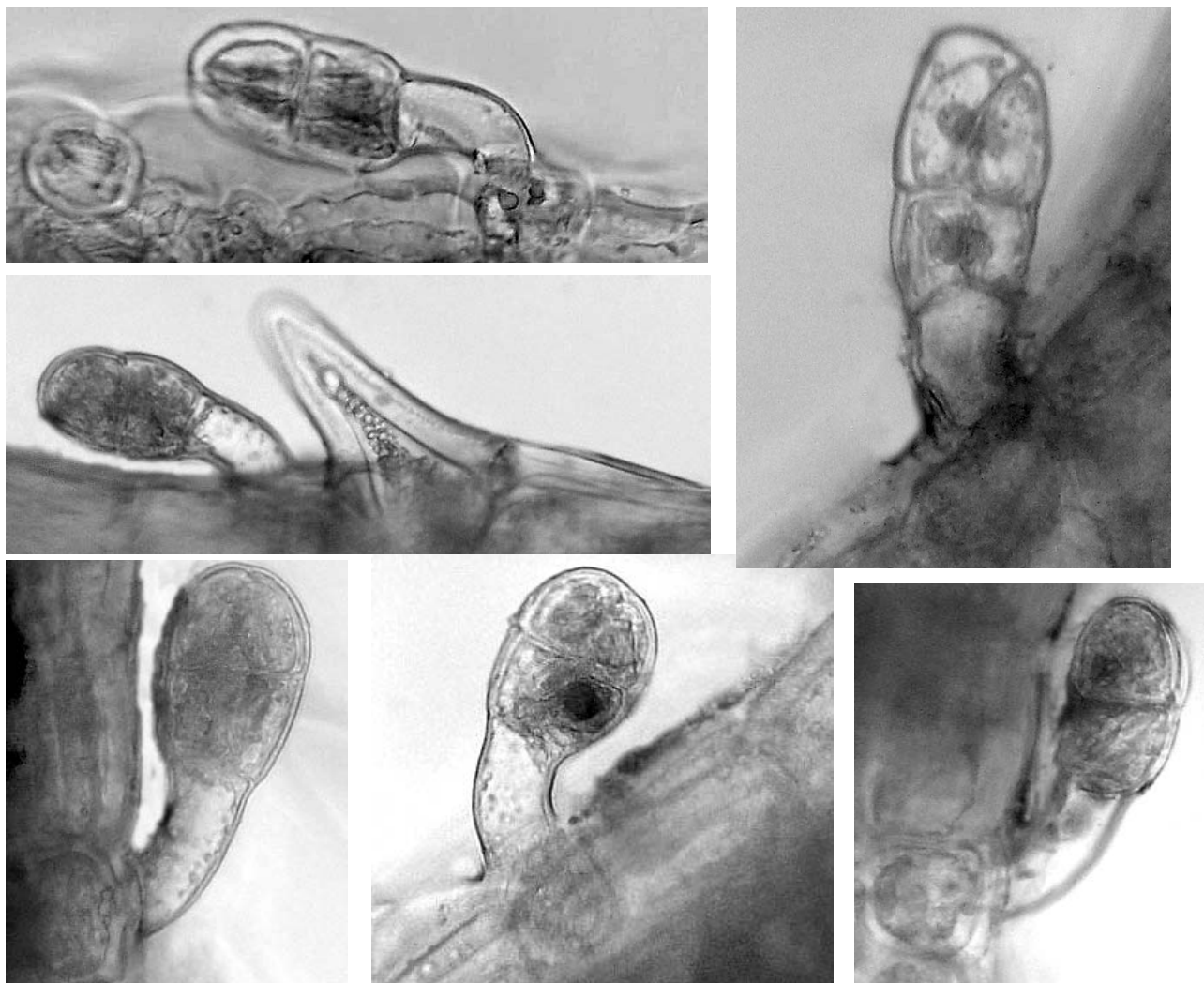


Рис. 4. Залозисті трихоми.

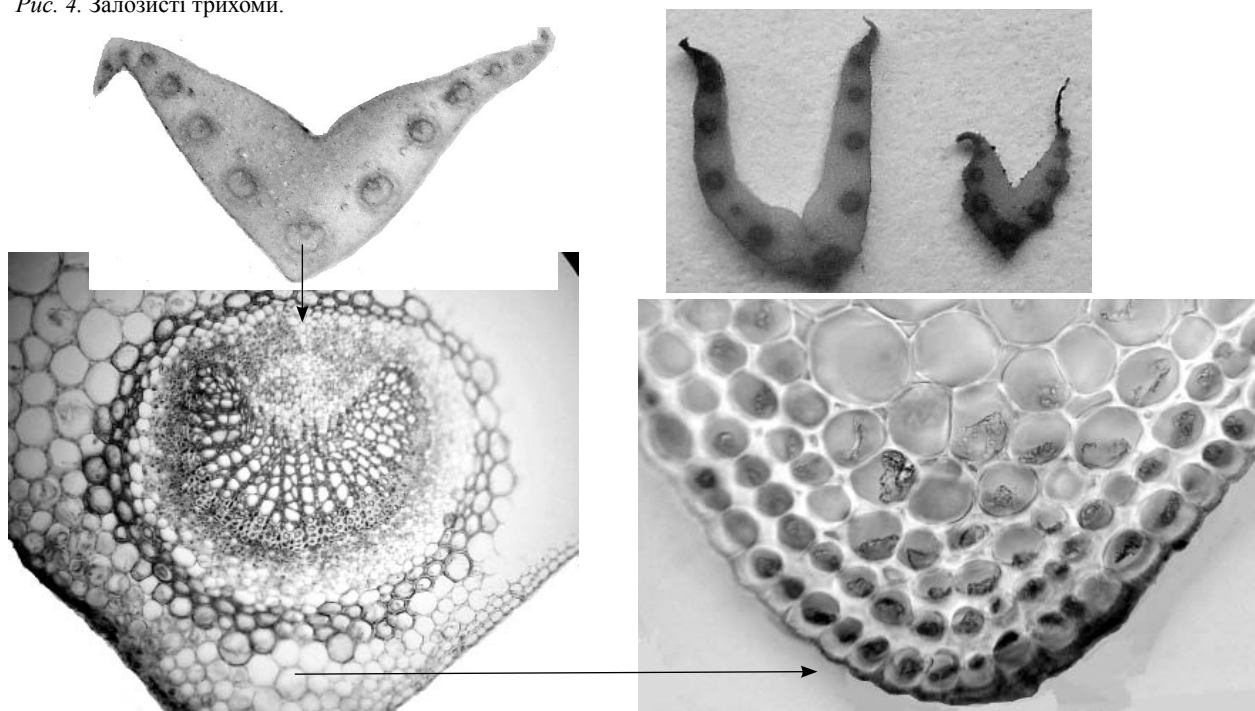


Рис. 5. Фрагменти поперечних зрізів черешка

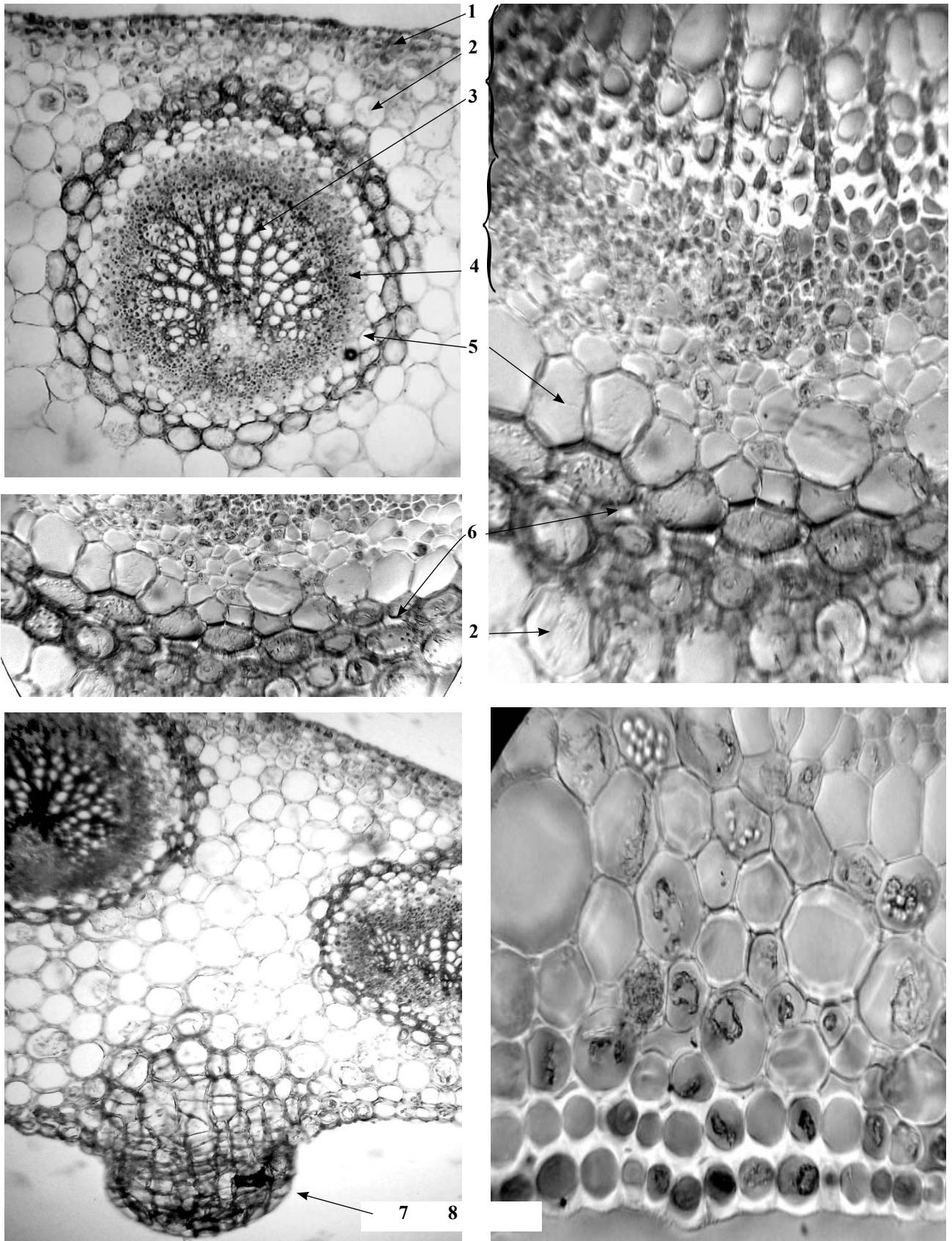


Рис. 6. Тканини черешка: 1 – верхня епідерма, 2 – паренхіма, 3 – ксилема, 4 – флоєма, 5 – облямовуюча паренхіма пучка, 6 – склеренхімні волокна ендодерми, 7 – емергенець, 8 – субепідермальна колєнхіма.

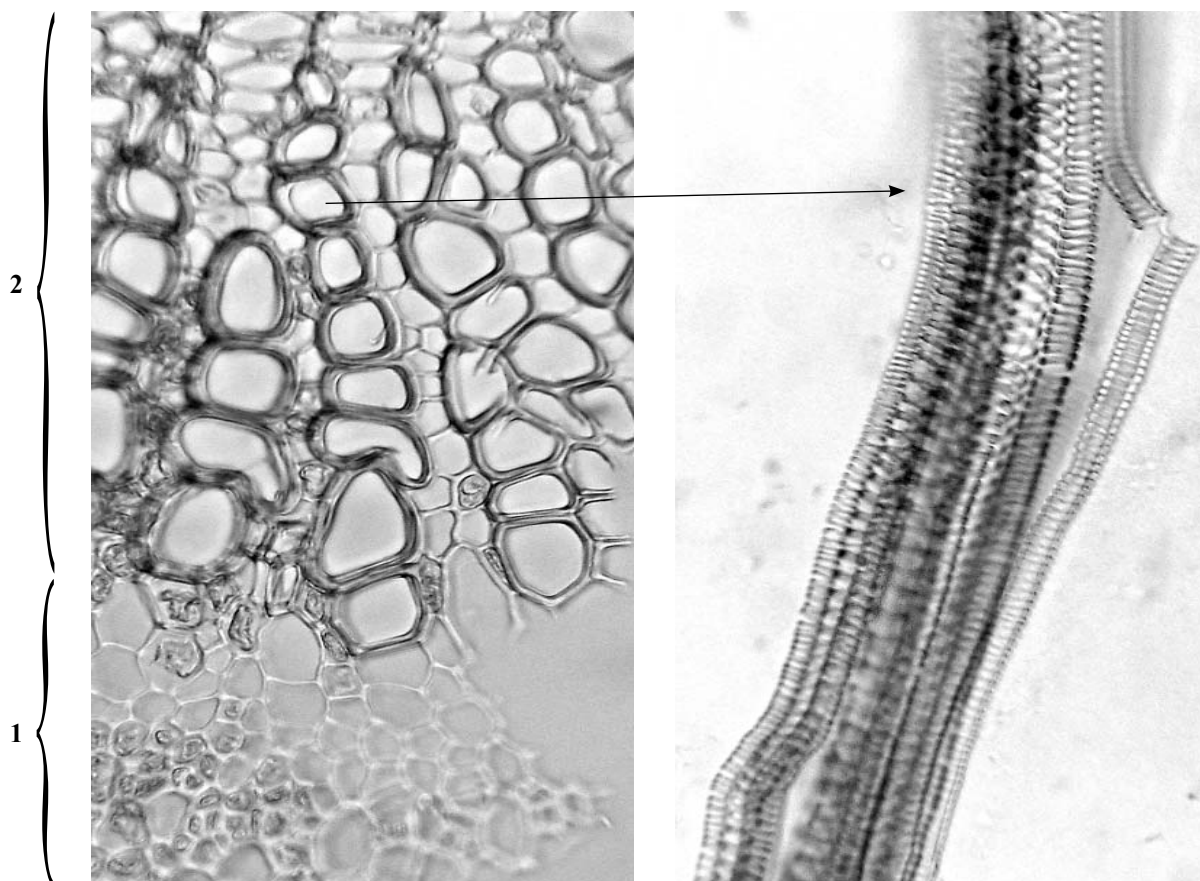


Рис. 7. Елементи флоєми (1) і ксилеми (2) жилок листка.

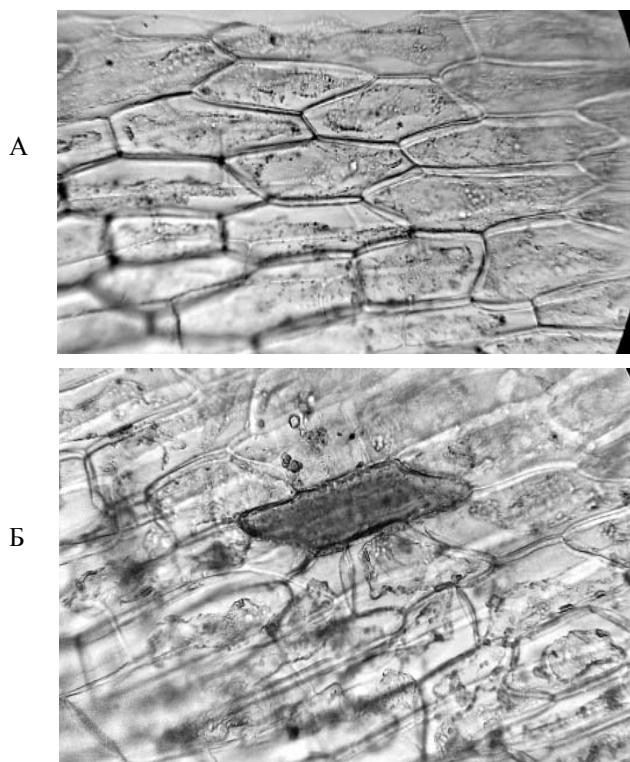


Рис. 8. Епідерма черешка:  
А – абаксiальної сторони, Б – адаксiальної сторони.

занурені у паренхіму, крупніші, округлі, з потовщеними оболонками.

#### Висновки

Вперше здійснено дослідження особливостей анатомічної будови надземних органів валеріани Гросгейма родини валеріанові, в результаті якого виявлено їх характерні мікроскопічні діагностичні ознаки:

- Сегменти листової пластинки: верхня епідерма крупноклітинна, без продихів, оболонки базисних клітин хвилясті; нижня епідерма з дрібнішими, звивистостінними базисними клітинами та продихами аномоцитного типу. На поверхні пластинки, над жилкою, по краю та на верхівці зубців виявлено прості й залозисті трихоми.
- Головна жилка, рахіс і черешок листка: епідермальні клітини абаксiальної сторони вузькі, видовжені, однорідні, продихи відсутні; епідерма адаксiальної сторони складається з ширших і коротших клітин з прямими первинними оболонками. Форма черешка у поперечному січенні від V-подібної, крилатої у півхві, до U-образної в середній частині черешка. Тип провідних пучків перехідний від колатерального у формі півмісяця чи місяця, до майже амфікрибрального, провідні пучки оточені 1–3-шаровою механічною ендодермою.
- Листкова пластинка за типом анатомічної будови майже ізолатеральна, зі слабо диференційованим 2–3-шаровим пухкуватою стовпчастою хлоренхімою або дорсовентральна, з диференційованим 3–4-шаровим, щільним мезофілом.



### Список літератури

1. Атлас по анатомии растений (растительная клетка, ткани, органы) / А.Г. Сербин, Л.С. Картамазова, В.П. Руденко, Т.Н. Гонтова // Учебн. пособие для студентов вузов. – Х.: Колорит, 2006. – 86 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.; Доповнення 1. – Харків: РІРЕГ, 2004. – 520 с.; Доповнення 2. – Харків: РІРЕГ, 2008. – 608с.
3. Корнієвська В.Г. Порівняльне фармакогностичне дослідження валеріани пагоносної та валеріани високої: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Корнієвська В.Г. – Львів, 2002. – 20 с.
4. Лекарственные растения. Полная энциклопедия / Лебеда А.Ф., Джуренко Н.И., Исайкина А.П. и др. – М.: АСТ-ПРЕСС книга, 2004. – 907 с.
5. Научные труды, том XXXIX, ч II. /Фармация на современном этапе – проблемы и достижения. – М., 2000 – С. 275.
6. Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. [и др.]; под ред. Ю.Н. Прокудина. – 1-е изд. – К.: Наук. думка, 1987. – 545 с.
7. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Барыкина Р.Н., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. [и др.]. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.
8. Талашова С.В. Фармакогностическое изучение, стандартизация и комплексная переработка валерианы лекарственной: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / Талашова С.В. – Ярославль, 1996. – С. 24.
9. Фурса Н.С. Валерианотерапия нервно-психических болезней (Обобщение возможностей создания новых лекарственных препаратов и опыта традиционной медицины) / Фурса Н.С., Григорьева Е.А., и др. – Запорожье, 2000. – 287 с.
10. European Pharmacopoea. – Strasbourg.: Council of Europe, 1995. – 587 p.
11. Hajibagheri N. Electron Microscopy (Methods and Protocols)/ Ed. by Nasser Hajibagheri // in Methods In Molecular Biology. – Vol. 117. – Humana Press, Totowa NJ., 2003. – 276 p.

---

### Відомості про авторів:

Панченко С.В., ст. лаборант каф. біохімії ЗДМУ.

Сіра Л.М., к. фарм. н., доцент каф. ботаніки НФаУ.

Корнієвська В.Г., к. фарм. н., ст. викладач каф. фармакогнозії та ботаніки ЗДМУ.

Корнієвський Ю.І., к. фарм. н., доцент зав. курсом ботаніки ЗДМУ.

### Адреса для листування:

Панченко Світлана Валеріївна. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. біохімії ЗДМУ.

Тел.: (061) 34 24 42.

---

Надійшла в редакцію 14.12.2011 р.



Н.В. Сидора<sup>1</sup>, А.М. Ковальова<sup>1</sup>, А.М. Комісаренко<sup>1</sup>, М.Ф. Гончаров<sup>2</sup>

## Хромато-мас-спектрометричне дослідження ліпофільних сполук глідів представників секції *Tenuifoliae* Sarg.

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна,

<sup>2</sup>Курський медичний університет, Російська Федерація

**Ключові слова:** глід, квітки, ліпофільні сполуки.

**Ключевые слова:** боярышник, цветки, липофильные вещества.

**Key words:** hawthorn, flowers, lipophilic compounds.

Хромато-мас-спектрометричним методом вперше здійснено порівняльне дослідження ліпофільних сполук квіток *C. densiflora* Sarg., *C. festiva* Sarg. і *C. flabellata* (Bosc) C. Koch. секції *Tenuifoliae* Sarg. У результаті в сировині ідентифіковано 51 сполуку різної хімічної будови: терпеноїди, вищі вуглеводні та спирти, похідні амінокислот, альдегіди, вищі жирні кислоти. Встановлено, що в квітках *C. densiflora* терпеноїди складають 8,9% від суміші, домінуючими сполуками є ліналоол (21,6%),  $\alpha$ -терпенеол (20,2%) та гераніол (19,7%); у *C. festiva* Sarg. – (12,7%), мажорна сполука – сквален (70,6%); у *C. flabellata* (Bosc) C. Koch – (6,6%), мажорні сполуки – сквален (95,9%) та гексагідрофарнезиллацетон (9,8%). Оригінальними сполуками для *C. densiflora* є 2-гексеналь (0,3%), дигідрометилжасмонат (0,4%) та фітол (0,3%); для *C. festiva* Sarg. – фарнезол (8,4%); для *C. flabellata* (Bosc) C. Koch – *n*-цимен-8-ол (1,8%) та *cis*-ліналоолоксид (1,3%).

Хромато-мас-спектрометрическим методом впервые проведено сравнительное исследование липофильных веществ цветков *C. densiflora* Sarg., *C. festiva* Sarg. и *C. flabellata* (Bosc) C. Koch. секции *Tenuifoliae* Sarg. В результате в сырье идентифицировано 51 вещество различного химического строения: терпеноиды, высшие углеводороды и спирты, производные аминокислот, альдегиды, высшие жирные кислоты. Установлено, что в цветках *C. densiflora* терпеноиды составляют 8,9% от смеси, доминирующими соединениями являются линалоол (21,6%),  $\alpha$ -терпинеол (20,2%) и гераниол (19,7%); в *C. festiva* Sarg. – 12,7%, мажорное соединение – сквален (70,6%); в *C. flabellata* (Bosc) C. Koch – 8,4%, доминирующие – сквален (95,9%) и гексагидрофарнезиллацетон (9,8%). Оригинальными соединениями для *C. densiflora* являются 2-гексеналь (0,3%), дигидрометилжасмонат (0,4%) и фитол (0,3%); для *C. festiva* Sarg. – фарнезол (8,4%); для *C. flabellata* (Bosc) C. Koch – *n*-цимен-8-ол (1,8%) и *cis*-линалоолоксид (1,3%).

By Gas chromatography–mass spectrometry in first a comparative investigation of lipophilic compounds of flowers *C. densiflora* Sarg., *C. festiva* Sarg. and *C. flabellata* (Bosc) C. Koch. *Tenuifoliae* Sarg. section were carried out. In results in plant raw material 51 compounds of different chemical structure were identify: terpenoids, higher hydrocarbons and spirits, amino acids derivatives, aldehydes, higher fatty acids. Was established, that in flowers of *C. densiflora* Sarg. terpenoids content is 8,9% from mixture, domination are linalool (21,6%),  $\alpha$ -terpineole (20,2%) and geraniol (19,7%); *C. festiva* Sarg. – (12,7%), domination *squalene* (70,6%); *C. flabellata* (Bosc) C. Koch – (8,4%), the dominant compounds *squalene* (95,9%) and hexahydro farnesyl acetone (9,8%). Character compounds of *C. densiflora* are 2 – hexenal (0,3%), *methyl dehydro-jasmonate* (0,4%) and *phytol*. (0,3%); *C. festiva* Sarg. – *farnesol* (8,4%); *C. flabellata* (Bosc) C. Koch - *p*-cymene-8-ol (1,8%) and *cis*-linalool oxide (1,3%).

За морфолого-анатомічними ознаками рід *Crataegus* L. поділяється на 25 секцій, що належать до різних географічних груп: східно-азійської (*Henryanae* Sarg., *Pinnatifidae* Zbl., *Cuneatae* Rehd., *Azaroli* Loud.); східно-азійської та східноєвропейської (*Sanguinea* Zbl., *Pentagyna* C.K.Schneid.), західноєвропейської (*Oxyacantha* Loud.); північноамериканської (*Douglasii* Lindl., *Molles* Sarg., *Tenuifoliae* Sarg., *Rotundifoliae* Ettl., *Virides* Sarg., *Cruss-Galli* Loud., *Punctatae* Loud., *Parvifoliae* Loud., *Flavae* Loud., *Macracanthae* Loud., *Dilatatae* Sarg., *Coccinea* Loud., *Pruinosae* Sarg., *Intricatae* Sarg., *Brevispinae* Beadle., *Microcarpa* Loud., *Cordatae* Beadle); південноамериканської (*Mexicanae* Loud.); південноєвропейської (*Azaroli* Loud.) [3]. Для фітохімічного дослідження обрано 12 видів глідів, що належали до різних ботанічних секцій та розповсюджені

на території України як у дикому вигляді, так і в культурі [4]. Одним із таких видів став глід віялоподібний – *Crataegus flabellata* (Bosc) C. Koch. Це представник секції *Tenuifoliae* Sarg. північноамериканської групи [7]. При фітохімічному дослідженні в листях і плодах цього виду встановлено не менше 40 сполук переважно фенольної природи, серед яких ідентифіковано флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та кумарин [1,2]. Проте склад інших класів біологічно активних речовин (БАР) глуду віялоподібного вивчено недостатньо.

### Мета роботи

Для розширення відомостей щодо хімічного складу *C. flabellata* здійснити дослідження ліпофільних сполук квіток. Поряд с глудом віялоподібним досліджували інші представники секції *Tenuifoliae* Sarg. *C. festiva* Sarg. та *C. densiflora* Sarg.

### Матеріали і методи дослідження

Для дослідження використовували сухі квітки глодів, зібрані в ботанічному саду Національного університету ім. В.Н. Каразіна у травні 2011 р. За допомогою старшого наукового співробітника В.І. Шатровської проводили визначення видів на належність. Якісний склад і кількісний вміст ліпофільних компонентів квіток визначали хромато-мас-спектрометричним методом [5,6]. Наважку (0,5–5 г) поміщували у віалу на 20 мл та додавали внутрішній стандарт – тридекан, з подальшим розрахунком отриманої концентрації внутрішнього стандарту, яку використовували для розрахунків. Дослідження проводили на хроматографі Agilent Technology HP6890 GC 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 руху газу-носія – 1 мл/1 хв.

Об'єм проби – 2 мкл. Введення проби splitless, тобто без розділення потоку. Швидкість введення проби – 1,2 мл/1 хв протягом 0,2 хв. Температура термостату – 50°C з програмуванням 4°/хв до 220°C. Температура детектора і випарювача – 250°C.

### Результати та їх обговорення

Отримані спектри розглядали як на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, так і порівнянням результатів з даними мас-спектральної бібліотеки NIST05 та WILEY 2007 з загальною кількістю спектрів понад 470 000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. У результаті у квітках *C. densiflora* встановлено 50 сполук, 40 з яких ідентифіковано; у квітках *C. festiva* виду встановлено 42 сполуки, 31 з яких ідентифіковано; у квітках *C. flabellata* встановлено 53 сполук, з яких ідентифіковано 45 (рис. 1,2,3; табл. 1).

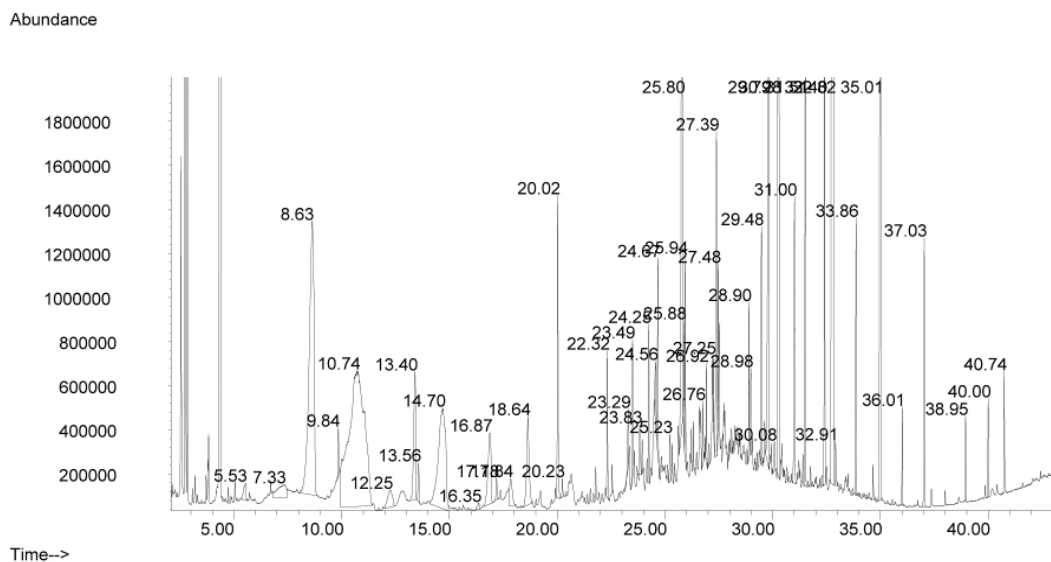


Рис. 1. Схема хроматограми ліпофільних сполук квіток *C. densiflora*.

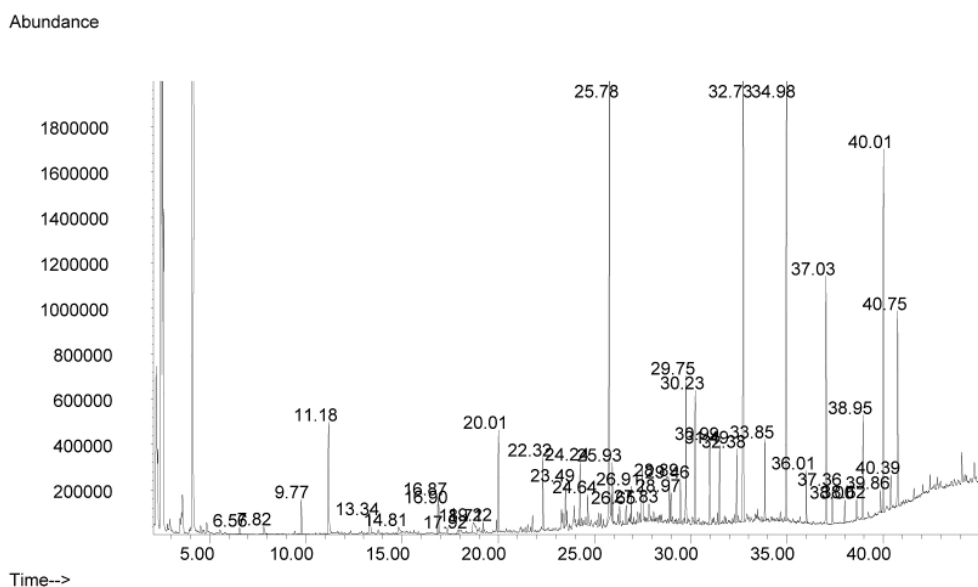


Рис. 2. Схема хроматограми ліпофільних сполук квіток *C. festiva*.

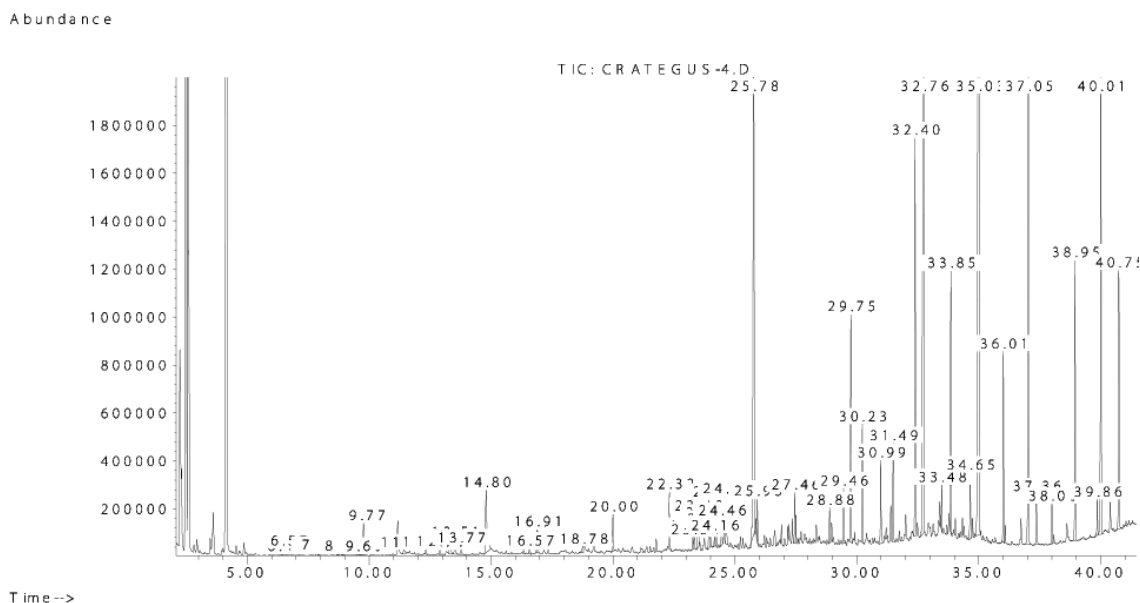


Рис. 3. Схема хроматограми ліпофільних сполук квіток *C. flabellata*.

Таблиця 1

**Результати хромато-мас-спектрометричного дослідження квіток глідів**

№	Назва сполуки	Час утримування	Кількісний вміст(мг/кг)		
			<i>C. densiflora</i> Sarg.	<i>C. festiva</i> Sarg.	<i>C. flabellata</i> (Bosc) C. Koch
Ароматичні сполуки					
1	бензальдегід	8,62-8,76	297,2		1,1
2	фенілацетальдегід	11,42			5,5
3	бензилціанід	14,69-14,8	160,5	11,4	83,1
Терпени і терпеноїди					
4	цис-ліналоолоксид	12,9			4,3
5	транс-ліналоолоксид	12,24-12,32	18,3		3,4
6	ліналоол	13,31-13,4	51,4		15,9
7	терпінен-4-ол	16,33-16,35	3,0		3,2
8	пара-цимен-8-ол	16,57			5,9
9	α-терпінеол	16,86-16,87	47,9	24,0	19,5
10	нерол	17,83-17,92	17,7	6,5	
11	гераніол	18,63-18,78	46,8	23,3	6,4
12	гераніацетон	23,28	8,8		10,8
13	фарнезол	27,82		18,8	
14	гексагідрофарнезилацетон	29,45-29,47	31,2	19,1	32,8
15	скален	39,99-40,01	12,5	157,8	319,8
Похідні амінокислот					
16	метилвалін	7,33-7,84	25,6	7,3	3,3
17	метилізолейцин	10,73-11,18	476,5	73,6	31,4
18	дигідрометилжасмонат	26,76	10,8		
Вуглеводні, жирні кислоти та їх ефіри. Інші сполуки					
19	транс-2-гексеналь	5,52	8,7		
20	нонан	6,55		4,4	5,3
21	декан	9,77-9,83	8,0		22,8
22	ундекан	13,34		20,7	
23	нонаналь	13,55	8,5		
24	2,6-диметилциклогексанол	13,76			7,4

Продовження таблиці 1

25	додекан	16,9		16,3	16,2
26	деканаль	17,17	4,7		
27	додеканаль	20,23	3,4		
28	тетрадекан	22,31-22,32	20,5	33,1	32,6
29	додеканол	23,82	11,0		
30	$\beta$ -іонон	23,93			19,8
31	$\beta$ -іонон-5,6-епоксид	23,99			13,2
32	тридеканон-2	24,16			8,1
33	пентадекан	24,23-24,24	19,8	24,2	23,2
34	гептодекан	27,47	12,5		27,2
35	гексодекан	25,92-25,94	23,5	22,4	21,5
36	октодекан	28,89	18,7		17,4
37	нонадекан	30,22-30,28	218,6	53,6	62,0
38	фталат	29,75-31	45,2	66,3	55,3
39	ейкозан	31,49-31,51	64,6	33,4	53,8
40	хенейкозен-10	32,38-32,4	71,2	34,0	221,6
41	хенейкозан	32,73-32,81	591,4	443,6	1119,1
42	фітол	32,9	8,2		
43	етилліноленат	33,48			22,4
44	докозан	33,84-33,86	34,3	32,5	138,6
45	трикозен-9	34,64			46,6
46	трикозан	34,97-35,02	236,9	337,7	1637,0
47	тетракозан	36	12,2	21,2	104,0
48	пентакозан	37,03	35,4	105,0	440,6
49	гексакозан	38		10,3	22,4
50	гептокозан	38,94	10,8	46,8	158,7
51	нонакозан	40,74	15,9	92,4	152,6

Як видно з таблиці 1, у досліджуваних видах ідентифіковано 51 сполуку різної хімічної природи: у квітках *C. densiflora* Sarg. та *C. festiva* Sarg. – 37 сполук, у *C. flabellata* (Bosc) C.Koch. – 42 сполуки. Серед них ароматичні сполуки: бензальдегід, фенілацетальдегід, бензилціанід; терпеноїди і терпени: терпінен-4-ол, *n*-цимен-8-ол,  $\alpha$ -терпінеол, ліналоол, цис-ліналоолоксид, транс-ліналоолоксид, транс-2-гексеналь, гераніол, геранілацетон, сквален, дигідрометилжасмонат, фарнезол, гексагідрофарнезилацетон, фітол; вищі вуглеводні та спирти; вищі жирні кислоти та їх ефіри: етиллінолеат; похідні амінокислот: метилвалін, метилізолейцин; альдегіди: деканаль, додеканаль, нонаналь.

У квітках *C. densiflora* Sarg. терпеноїдний вміст від суміші склав 8,9%, вищі вуглеводні та спирти – 58,8%, похідні амінокислот – 18,9%, альдегіди – 0,63%. Серед терпеноїдів за кількісним вмістом (від суми терпеноїдів) домінують ліналоол (21,6%),  $\alpha$ -терпінеол (20,2%) та гераніол (19,7%). Оригінальними сполуками *C. densiflora* є транс-2-гексеналь (0,3%), дигідрометилжасмонат (0,4%) та фітол (0,3%).

У квітках *C. festiva* Sarg. терпеноїдний вміст від суміші склав 12,7%, вищі вуглеводні та спирти – 80,4%, похідні амінокислот – 4,6%, альдегіди – 1,2%. Серед терпеноїдів за кількісним вмістом домінують сквален (70,6%). Оригіналь-

ною сполукою *C. festiva* виявився фарнезол (8,4%).

У квітках *C. flabellata* (Bosc) C.Koch. терпеноїдний вміст від суміші склав 6,6%, вищі вуглеводні та спирти – 90,1%, похідні амінокислот – 0,7%, альдегіди – 0,5%. Серед терпеноїдів за кількісним вмістом від суміші домінують сквален (95,9%) та гексагідрофарнезилацетон (9,8%). Індивідуальними сполуками сировини *C. flabellata* є *n*-цимен-8-ол (1,8%) та цис-ліналоолоксид (1,3%).

#### Висновки

1. Вперше здійснено порівняльне хромато-мас-спектрометричне дослідження ліпофільних сполук *Crataegus densiflora* Sarg., *Crataegus festiva* Sarg. та *Crataegus flabellata* (Bosc) C.Koch. секції *Tenuifoliae* Sarg.

2. Ідентифіковано 51 сполуку різної хімічної будови: ароматичні сполуки, терпеноїди, вищі вуглеводні та спирти, вищі жирні кислоти та їх ефіри, похідні амінокислот, альдегіди.

3. Визначено терпеноїдний вміст квіток, що від суміші компонентів склав для видів: *C. densiflora* Sarg. – 8,9%; *C. festiva* Sarg. – 12,7%; *C. flabellata* (Bosc) C.Koch. – 6,6%.

4. Для досліджуваних видів встановлено оригінальні сполуки: *C. densiflora* Sarg. – транс-2-гексеналь (0,3%), дигідрометилжасмонат (0,4%) і фітол (0,3%); *C. festiva* Sarg. – фарнезол (8,4%); *C. flabellata* (Bosc) C.Koch. – *n*-цимен-8-ол (1,8%) та цис-ліналоолоксид (1,3%).

**Список літератури**

1. Поліфеноли листя видів роду *Crataegus* L. / Ковальова А.М., Сидора Н.В., Комісаренко А.М., Гончаров М.Ф. // Медична хімія. – 2008. – №3. – С. 110–112.
  2. Гончаров Н.Ф. Фенольные соединения североамериканских видов рода боярышник / Гончаров Н.Ф., Сидора Н.В., Ковалева А.М., Комисаренко А.Н. // Российский медико-биологический вестник имени академика Павлова. – 2008. – №3. – С. 150–154.
  3. Деревья и кустарники СССР / Под ред. С.И. Соколов. – М., 1954. – Т. 3. – С. 873.
  4. Флора УРСР / Под ред. Д.К. Зеров. – К., 1954. – Т. 4. – С. 49–79.
  5. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / A.I. Carrapiso, C. García // Lipids. – 2000. – №35 (11). – P. 1167–1177.
  6. Direct resistively heated column gas chromatography (Ultrafast module-GC) for high-speed analysis of essential oils of differing complexities / C. Bicchì, C. Brunelli, C. Cordero, P. Rubiolo and others // J. Chromatogr. A. – 2004. – V. 1024. – №1–2. – P. 195–207.
  7. Phipps J.B. Origin and evolution of subfam. *Maloideae* (*Rosaceae*) / J.B. Phipps, K.R. Robertson // Syst. Bot. – 1991. – Vol. 16, №4. – P. 303–332
- 

**Відомості про авторів:**

Сидора Н.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії НФаУ.

Ковальова А.М., д. фарм. н., професор каф. фармакогнозії НФаУ.

Комісаренко А.М., д. фарм. н., професор каф. хімії природних сполук НФаУ.

Гончаров М.Ф., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії КМУ.

**Адреса для листування:**

Сидора Наталя В'ячеславівна. 61054, м. Харків, вул. Гвардійців Широнінців, 29 А, кв. 139.

E-mail: sidora2005@rambler.ru

---

Надійшла в редакцію 04.04.2012 р.



М.І. Шанайда, С.М. Марчишин

## Пігментний склад надземної частини *Monarda fistulosa* L.

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

**Ключові слова:** *Monarda fistulosa*, каротиноїди, хлорофіли, флавоноли, флавоноли, антоціанини, 3DF-спектроскопія.

**Ключевые слова:** *Monarda fistulosa*, каротиноиды, хлорофиллы, флавоны, флавонолы, антоцианины, 3DF-спектроскопия

**Key words:** *Monarda fistulosa*, carotenoids, chlorophyll, flavons, flavonols, anthocyanins, 3DF-spectroscopy.

Здійснено аналіз пігментного складу трави *Monarda fistulosa* L. методом тривимірної флуоресцентної спектроскопії. В хлороформному екстракті виявлено суміш хлорофілів, каротиноїдів, агліконів флавонів і поліфенолів. У метанольному екстракті виявлено суміш хлорофілів, каротиноїдів, флавонолів, флавонолів та антоціанінів.

Осуществлен анализ пигментного состава травы *Monarda fistulosa* L. методом трехмерной флуоресцентной спектроскопии. В хлороформном экстракте выявлена смесь хлорофиллов, каротиноидов, агликонов флавонов и полифенолов. В метанольном экстракте обнаружена смесь хлорофиллов, каротиноидов, флавонолов, флавононов и антоцианинов.

The results of research of the pigments composition of *Monarda fistulosa* L. herb by method based on three-dimensional spectroscopy are presented. There were revealed a mixture of chlorophyll, carotene, aglikons of some flavones and polyphenols in the chloroform extract. We also revealed a mixture of chlorophyll, carotene, flavones, flavonols and anthocyanins in the methanol extract.

До найважливіших пігментів вищих рослин належать хлорофіли, каротиноїди, антоціани, флавоноли тощо [3,5]. Хлорофіли і каротиноїди належать до первинних метаболітів, флавоноїди – до вторинних. Хлорофіли забезпечують здійснення процесу фотосинтезу, каротиноїди здатні виконувати мембраностабілізуючу функцію. Серед флавоноїдів найвідомішими пігментами є антоціани, що надають органам рослин червоного чи синьо-фіолетового забарвлення, та жовто-оранжеві флавоноли. Завдяки здатності поглинати ультрафіолетове випромінювання флавоноїди захищають рослинні клітини від впливу надлишкової радіації, а також беруть участь в окисно-відновних реакціях [5]. В організмі людини пігменти виявляють антиоксидантну, протирадіаційну, вітамінну та інші види активності, у зв'язку з чим знаходять використання у фармацевтичній практиці та дієтології. Інтерес до вивчення пігментного складу лікарських рослин останніми роками значно зріс [1,2,4,7,8].

### Мета роботи

У зв'язку з тим, що у джерелах наукової літератури відсутня інформація щодо вивчення вмісту пігментів у сировині представників роду *Monarda* (родина *Lamiaceae*), актуальним є аналіз якісного складу та кількісного вмісту пігментів у траві монарди трубчастої (*Monarda fistulosa* L.).

### Матеріали і методи дослідження

Надземну частину монарди трубчастої заготовляли у період масового цвітіння 3–4-річних рослин на дослідних ділянках Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Пігментний склад надземної частини *Monarda fistulosa* проаналізовано методом тривимірної флуоресцентної спектроскопії (3DF-спектроскопія), який використовують для якісного аналізу багатоконпонентних сумішей, що містять флуоресціюючі сполуки. Для отримання

екстрактів використано хлороформну та метанольну фракції. Для визначення суми хлорофілів у якості стандарту використано хлорофіл А (виділений зі шпинату) фірми Sigma-Aldrich, суми каротиноїдів – синтетичний бета-каротин фірми Sigma-Aldrich, суми флавоноїдів – кверцетину дигідрат тієї ж фірми.

Отримані 3DF-спектри реєстрували в УФ і видимому діапазонах за допомогою флуориметра Hitachi F4010. Вимірювання проводили в інтервалі довжин хвиль збудження (excitation) 250–750 нм; в інтервалі довжин хвиль флуоресценції (emission) 250–800 нм; крок сканування складав 10 нм. Тривимірні графіки побудовано з використанням пакета програмного забезпечення Spektra Data Lab, розробленого на базі науково-дослідного інституту хімії Харківського національного університету ім. М. Каразіна [1]. Всі розрахунки проводили у програмному середовищі Excel з пакета прикладних програм Microsoft Office 2003.

### Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих тривимірних спектрів скануючої спектрофлуориметрії в хлороформному екстракті трави монарди трубчастої дозволив встановити наявність таких пігментів (рис. 1): сліди агліконів флавонолів, яким притаманні піки у ділянках  $\lambda_{\text{exc}}=300\text{--}360$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=400\text{--}450$  нм; сліди агліконів поліфенолів з піками в ділянках  $\lambda_{\text{exc}}=270\text{--}280$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=320\text{--}370$  нм та суміші хлорофілів, для яких характерні піки в ділянках  $\lambda_{\text{exc}}=300\text{--}430$ ,  $450\text{--}520$ ,  $610\text{--}690$  нм;  $\lambda_{\text{em}}=650\text{--}750$  нм. У метанольному екстракті (рис. 2) виявлені піки у ділянках  $\lambda_{\text{exc}}=270\text{--}400$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=400\text{--}480$  нм, що характерні для флавонолів і флавонолів, та  $\lambda_{\text{exc}}=300\text{--}430$ ,  $450\text{--}520$ ,  $610\text{--}690$  нм,  $\lambda_{\text{em}}=650\text{--}750$  нм, властиві для суміші хлорофілів.

На основі здійсненого аналізу кількісного вмісту пігментів (у перерахунку на повітряно-суху сировину) в надземній частині *Monarda fistulosa* отримано наступні результати (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст пігментів і флавоноїдів у хлороформному та метанольному екстрактах трави *Monarda fistulosa* (мг/г)

	Хлороформний екстракт		Метанольний екстракт		
	хлорофіли	каротиноїди	хлорофіли	каротиноїди	флавоноїди
Отримані значення (в порядку зростання)	11,21	6,20	10,04	6,48	10,66
	11,23	6,24	10,07	6,48	10,73
	11,28	6,29	10,13	6,51	10,79
Значення медіани	11,23	6,24	10,07	6,48	11,73
Середнє значення	11,24	6,24	10,08	6,49	11,73
Середньо-квадратична похибка	0,036	0,045	0,046	0,017	0,065
Інтервал довіри (при $\alpha = 0,05$ )	0,04	0,05	0,06	0,02	0,07
Результат	11,24±0,04	6,24±0,05	10,08±0,06	6,49±0,02	11,73±0,07

Порівняння отриманих результатів з даними джерел спеціалізованої літератури [2,4] показало, що в досліджуваних екстрактах трави монарди трубчастої міститься значна кількість хлорофілів і каротиноїдів, що вказує на перспективність подальших досліджень цієї сировини.

Серед флавонових сполук у метанольних екстрактах трави монарди трубчастої (рис. 2) найвищим виявився вміст флавонолів. Встановлено також наявність агліконів флавонів. Похідні флавону (апігенін і лютеолін) ідентифіковано на основі попередніх досліджень тра-

ви монарди трубчастої [6] з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії. У науковій літературі [3] є відомості про домінування в сировині рослин родини *Lamiaceae* похідних флавонолу.

**Висновки**

Отримані результати щодо вмісту пігментів у надземній частині монарди трубчастої відкривають перспективу вивчення антиоксидантних, протизапальних та інших властивостей досліджуваної рослини та можуть бути використані при розробці нових біологічно активних субстанцій.

**Список літератури**

1. Визначення видового походження рослинних олій / В.А. Параніч, А.О. Дорошенко, О.Д. Рошаль [та ін.] // Фарм. журн. – 2000. – №5. – С. 86–90.
2. Калушка О.Б. Аналіз ліпофільної фракції надземних та підземних органів пирію повзучого / О.Б. Калушка, С.М. Марчишин, О.В. Лукієнко // Медична хімія. – 2008. – №3 (7). – С. 89–91.
3. Клышев Л.К. Флавоноиды растений / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. – Алма-Ата: Наука, 1978. – С. 96.
4. Кузнецова В.Ю. Аналіз ліпофільних фракцій листя винограду дикого / В.Ю. Кузнецова, В.С. Кисличенко, К.В. Адамченко // Фармац. часопис. – 2007. – №2 (2). – С. 44–46.
5. Лебедева И.С. Пигменты растительного мира / И.С. Лебедева, К.М. Сытник. – К.: Наукова думка, 1986. – С. 85–92.
6. Шанайда М.І. Фітохімічне дослідження надземної частини *Monarda fistulosa* L. / М.І. Шанайда // Фарм. журнал. – 2010. – №5. – С. 89–93.
7. Contents of plant pigments in medicinal plants of family *Lamiaceae* in W. Balkans as an indicator of potential antioxidant activity / S. Redzic, N. Sejdic, S. Pilipovic, A. Palic // Abstracts of the world congress on medicinal and aromatic plants. – Cape Town, November 2008. – P. 248.
8. Redzić S. Plant pigments (antioxidants) of medicinal plants *Malva silvestris* L. and *Malva moschata* L. (*Malvaceae*) / S. Redzić, N. Hodzić, M. Tuka // Bosn. J. Basic. Med. Sci. – 2005. – №5 (2). – P. 53–58.

**Відомості про авторів:**

Шанайда М.І., к. біол. н., доцент каф. фармакогнозії з медичною ботанікою ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.  
Марчишин С.М., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакогнозії з медичною ботанікою ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

**Адреса для листування:**

Шанайда Марія Іванівна. 46027, м. Тернопіль, вул. Винниченка, 4/31.  
Тел.: (0352) 53 52 00.  
E-mail: shanayda@rambler.ru

Надійшла в редакцію 01.02.2012 р.





С.М. Коваленко

## Дослідження деяких властивостей субстанцій таурину та тіоктової кислоти з метою створення комбінованого препарату для лікування діабетичних ускладнень

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** таурин, тіоктова кислота, цукровий діабет, діабетичні ускладнення.

**Ключевые слова:** таурин, тиоктовая кислота, сахарный диабет, диабетические осложнения.

**Key words:** taurine, thioctic acid, saccharine diabetes, diabetic complications.

Обґрунтовано актуальність розробки нових комбінованих лікарських препаратів на основі таурину і тіоктової кислоти для лікування діабетичних ускладнень. Наведено результати досліджень кристалографічних, фізико-хімічних і технологічних характеристик діючих речовин. Доведено, що для отримання таблетованої форми комбінованого препарату для лікування діабетичних ускладнень найдоцільнішим є використання методу вологої грануляції.

Обоснована актуальность разработки новых комбинированных лекарственных препаратов на основе таурина и тиоктовой кислоты для лечения диабетических осложнений. Представлены результаты исследований кристаллографических, физико-химических и технологических характеристик действующих веществ. Доказано, что для получения таблетированной формы комбинированного препарата для лечения диабетических осложнений наиболее целесообразным является использование метода влажной грануляции.

Actuality of development of the new combined medicinal preparations is grounded on the basis of taurine and thioctic acid for treatment of diabetic complications. The results of researches of crystallography, physical and chemical and technological descriptions of operating matters are presented. It is well-proven that for the receipt of pill form of the combined preparation for treatment of diabetic complications most expedient is the use of method of moist granulation.

Цукровий діабет (ЦД) – єдине захворювання крім СНІДу, визначене Організацією Об'єднаних Націй (ООН) як патологія, що «несе загрозу цивілізації Землі і світовій економіці». На сьогодні нараховують понад 240 млн хворих на 1 та 2 тип ЦД. Кожну секунду в світі від ЦД вмирає одна людина, ще двоє дізнаються про свій діагноз. Щорічно більш ніж у 13 тис. дітей діагностують діабет 1 типу. Захворюваність діабетом 1 типу становить 7 випадків на 100 тис. на рік для дітей віком 4 роки і молодше, 15 випадків на 100 тис. дітей віком 5–9 років і приблизно 22 випадки на 100 тис. дітей віком 10–14 років. Близько 75% всіх вперше діагностованих випадків діабету 1 типу визначають у осіб молодше 18 років [1,12,13,14].

В Україні зареєстровано близько мільйона хворих, серед яких 120 тис. дітей віком від 5 до 15 років. Розвиток ЦД призводить до страшних наслідків: сліпоти, гангрени й ампутації нижніх кінцівок. Перші ускладнення хвороби виявляються вже на момент постановки діагнозу, а через 10–20 років хворий може стати повним інвалідом. Від ускладнень ЦД щорічно вмирають більше 4 мільйонів осіб [1,11,12].

На сьогодні актуальною є розробка нових високоефективних лікарських засобів, що поєднують різні фармакологічні ефекти, які на фоні нормалізації вуглеводного обміну впливатимуть на різноманітні ускладнення ЦД [8,9]. Ці препарати мають характеризуватись наступними властивостями:

- регулювати обмін речовин за допомогою дії без-

посередньо на патогенез цукрового діабету і його ускладнень;

- покращувати або нормалізувати вуглеводний і ліпідний обмін, знижувати швидкість прогресу атеросклерозу;
- зменшувати явища оксидативного стресу;
- знижувати явища інсулінорезистентності, ризик смертності та прогресу діабетичних ускладнень.

Нині на вітчизняних фармацевтичних підприємствах випускають ряд препаратів для лікування ЦД, проте серед них є лише незначна кількість засобів, що застосовуються для лікування діабетичних ускладнень.

Проаналізувавши дані спеціалізованої літератури, відзначено, що таурин і тіоктова кислота мають антиоксидантний, кардіопротекторний, мембранопротекторний і гіпоглікемічний ефекти та досить часто використовуються для комплексного лікування ускладнень, особливо 2 типу ЦД, що пов'язані з судинними та нервовими патологіями. Тому перспективним напрямком при лікуванні діабетичних ангіопатій і нейропатій є створення нових комбінованих лікарських препаратів на основі таурину та тіоктової кислоти [2,8,9,11].

Тіоктової ( $\alpha$ -ліпоевої) кислоті належить істотна роль у регуляції метаболічних процесів. Як кофермент вона бере участь у вуглеводному та білковому обміні, є однією з важливих складових антиоксидантної системи організму. Тіоктова кислота виявляє антиоксидантну, гепатопротекторну, гіполіпідемічну, гіпохолестеринемічну та гіпоглікемічну дію. У хворих на діабет  $\alpha$ -ліпоева

кислота знижує резистентність до інсуліну і гальмує розвиток периферичної нейропатії. Тіоктова кислота характеризується регенеруючою дією на нервові волокна, стимулює зростання аксонів і їх розгалуження, що з часом сприяє відновленню нервової провідності.

Як відомо, одним із основних ускладнень у хворих на цукровий діабет є периферична нейропатія, зумовлена частковим зниженням ендонейрональної біологічної доступності глюкози й супутнім зростанням оксидативного стресу. Проте для лікування діабетичної нейропатії нині застосовують переважно симптоматичні препарати, що хоча й ослаблюють болі, але зовсім не впливають на перебіг хвороби. Однак останнє має бути метою лікування нейропатії. Єдиною альтернативою симптоматичної терапії на сьогодні є  $\alpha$ -ліпоєва кислота, застосування якої є обґрунтованим у патогенетичному аспекті. Ця діюча речовина є могутнім «очищувачем» від вільних радикалів і частиною власної антиоксидантної захисної системи організму. Саме окислювальний стрес відіграє центральну роль у патогенезі діабетичних ускладнень. Додатково тіоктова кислота покращує невропатичний дефіцит, що, як відомо, є чинником ризику формування діабетичної стопи і значно підвищує ризик ампутації. Високу ефективність і хорошу переносимість тіоктової кислоти при діабетичній поліневропатії давно підтверджено клінічними дослідженнями [10,15].

В Україні зареєстровано кілька препаратів на основі тіоктової кислоти: «Еспа-ліпон» (виробництво «Espharma», Німеччина), «Тіогамма» (виробництво «Wegway Pharma», Німеччина), «Альфа-ліпон» (виробництво «Werle», Німеччина та «Київський вітамінний завод, Україна), «Берліглон 300» (виробництво «Берлін-Хемі», Німеччина), «Тіоктацид 600» (виробництво «Віатрис ГмбХ», Німеччина), «Діаліпон» (виробництво ВАТ «Фармак», Україна) тощо.

Природна амінокислота таурин бере участь у біохімічних перетвореннях, сприяє поліпшенню енергетичних процесів, відіграє суттєву роль в обміні жирів, входить до складу парних жовчних кислот, сприяє емульгуванню жирів у кишечнику. Характерною особливістю таурину є здатність стимулювати репаративні процеси, стабілізувати вуглеводний обмін, знижувати середньодобову глікемію. Різноманітні біологічні властивості таурину визначають широкий спектр його фармакологічної активності. Таурин виявляє кардіопротекторну, антиоксидантну, осморегуляторну, мембранопротекторну дію та характеризується нейромедіаторною активністю. Він допомагає стабілізувати рівень цукру в крові при 1 та 2 типах ЦД. У пацієнтів з діабетом 2 типу таурин підвищує чутливість кліток до інсуліну, а при діабеті 1 типу щоденний прийом препаратів на його основі призводить до тривалого зниження рівня цукру в крові і до зменшення аномальної активності тромбоцитів. У хворих на діабет концентрація таурину в крові часто нижче за норму, що, можливо, підвищує їх сприйнятливості до ретинопатії та серцевих захворювань. Одним із механізмів розвитку

діабетичних ангіопатій вважають наявність генетичної схильності до аномалії клітинних мембран, що реалізується в судинну патологію через метаболічні порушення. У зв'язку з цим в лікуванні хворих на цукровий діабет доцільне використання лікарських засобів мембраностабілізуючої дії, наприклад, таурину [2,8].

В Україні зареєстровано ряд препаратів на основі таурину: «Тауфон» (виробництво ТОВ «Дослідний завод «ДНЦЛЗ», ЗАТ «Біофарма», ВАТ «Фармак», Україна; виробництво «Белмедпрепараты», Республіка Білорусь), «Тауфон-Дарниця» (виробництво ЗАТ Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна), «Дибікор» (виробництво ТОВ «Пік-фарма», Росія), «Кратал» (виробництво ЗАТ НВЦ «БХФЗ», Україна), «Аміносол Нео» (виробництво «Nemopharm», Сербія), «Вамінолакт» (виробництво «Help medic», Швеція) тощо.

Однак комплексних препаратів, що містять водночас таурин і тіоктову кислоту в одній лікарській формі, в Україні нині не зареєстровано, а отже їх не випускають. Наведені дані є обґрунтуванням безумовної перспективності створення нового комбінованого препарату на основі тіоктової кислоти і таурину в різних лікарських формах.

#### Мета роботи

Визначення кристалографічних, фізико-хімічних і технологічних показників лікарських субстанцій таурину та тіоктової кислоти. Результати досліджень дозволять теоретично обґрунтувати склад і технологію виготовлення нового оригінального лікарського препарату у формі таблеток для лікування діабетичних ангіопатій і нейропатій.

#### Матеріали і методи дослідження

У якості об'єктів дослідження обрано субстанції тіоктової кислоти («Shanghai modern pharmaceutical Co., LTD», Китай) та таурину («Jiangsu Yuanyang Chemicals Limited Company», Китай).

Кристалографічні характеристики визначали методом мікроскопії, а форму, характер поверхні та лінійні розміри часток порошоків субстанцій таурину та тіоктової кислоти досліджували за допомогою мікроскопу «Mikrophot D16B» [2,8,9,11].

Технологічні властивості субстанцій досліджували за загальноприйнятими методиками [3–5]. Насипну густину та насипний об'єм вимірювали на приладі моделі RT-TD PHARMA TEST (Німеччина).

#### Результати та їх обговорення

Відомо, що технологічні властивості порошоків і можливість їх використання у виробництві більшою мірою залежать від їх дисперсності та форми кристалів субстанцій, тому перш за все вивчено кристалографічні показники субстанцій тіоктової кислоти та таурину.

На *рис. 1 та 2* наведено кристалографічні та кристалооптичні характеристики досліджуваних субстанцій.

Порошок тіоктової кислоти (*рис. 1*) являє собою голчасті довгасті кристали, середній розмір частинок складає більше 2 мкм.

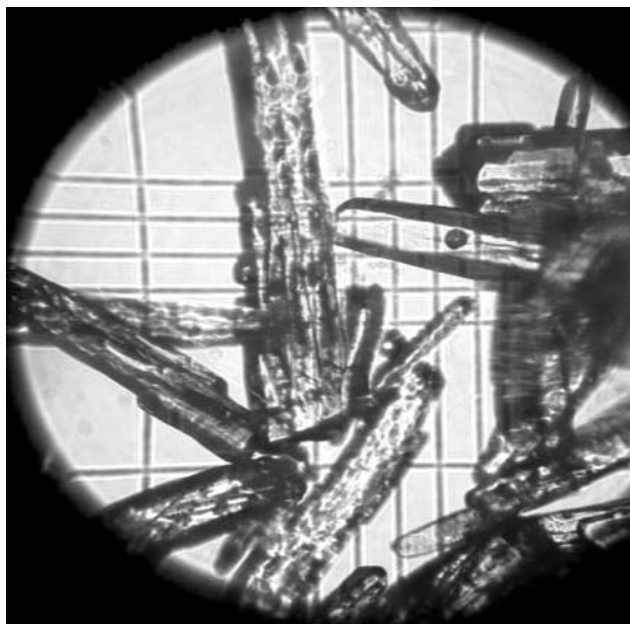


Рис. 1. Кристалографія порошку тіоктової кислоти. Розмір лінійки – 1 мкм.

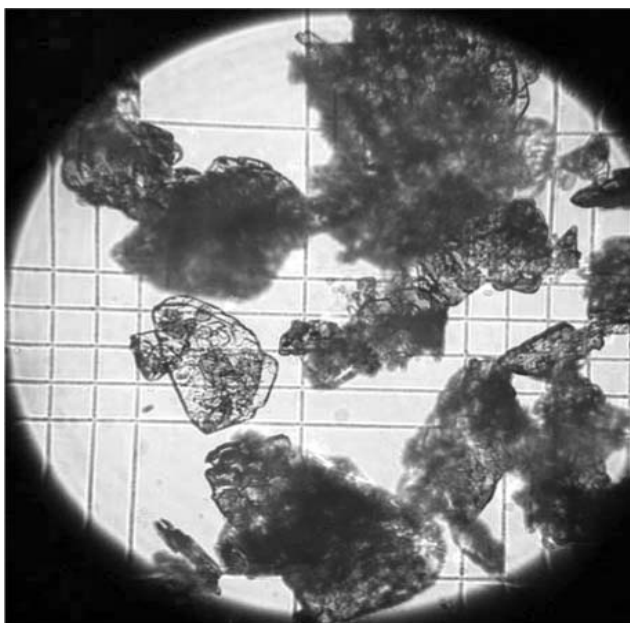


Рис. 2. Кристалографія порошку таурину. Розмір лінійки – 1 мкм.

Субстанція таурин (рис. 2) являє собою полідисперсний кристалічний порошок з частинками неправильної форми у вигляді різноосних багатогранників, розміром менше 2 мкм.

Вивчено фізико-хімічні властивості субстанцій таурину та тіоктової кислоти. Тіоктова кислота («Shanghai modern pharmaceutical Co., LTD, Китай») являє собою жовтий кристалічний порошок, дуже мало розчинний у воді, легко розчинний у ДМФА та метанолі, температура плавлення – 61°C, втрата маси при висушуванні – 0,1%, сульфатна зола – 0,1%, вміст  $C_8H_{14}O_2S_2$  (тіоктової кислоти) в перерахунку на суху речовину від 100,5 %, сума сторонніх домішок має складати 0,1%.

Субстанція таурин («Jiangsu Yuanyang Chemicals Limited Company», Китай) – це білий кристалічний порошок, добре розчинний у воді та не розчинний в органічних розчинниках, температура плавлення – 329°C, втрата маси при висушуванні – 0,05%, сульфатна зола – 0,1%, вміст таурину в перерахунку на суху речовину – від 99,8%, заліза – 0,0005% та сульфатів – 0,005%

Результати дослідження технологічних властивостей субстанцій тіоктової кислоти та таурину наведено в таблиці 1. З наведених даних видно, що досліджувані субстанції за технологічними показниками мають різні значення: хорошу пресованість має субстанція тіоктової кислоти, а субстанція таурину має низьку пресованість. Також субстанції за розміром і формою частинок неоднакові: голчасті довгасті кристали тіоктової кислоти більше 2 мкм, а кристали субстанції таурину неправильної форми у вигляді різноосних багатогранників менше 2 мкм, що зумовлює зниження поверхні контакту часток між собою та призводить до зниження плинності порошків і підтверджується експериментальними даними.

Отже, теоретично, разом субстанції таурину та тіоктової кислоти не можуть бути використані для прямого пресування, що зумовлено різним розміром і формою частинок досліджуваних речовин і значною різницею показників пресованості та плинності.

#### Висновки

На підставі аналізу даних спеціалізованої літератури та експериментальних досліджень зроблено висновок про доцільність розробки нових комбінованих лікарських засобів для лікування діабетичних ускладнень, що поєднують різні фармакологічні ефекти.

Вивчено кристалографічні, фізико-хімічні та технологічні показники діючих субстанцій таурину та тіоктової кислоти.

Результатами досліджень доведено, що для отримання таблетованої форми комбінованого оригінального препарату на основі діючих речовин таурину та тіоктової кислоти для лікування діабетичних ускладнень найбільш доцільним є використання методу вологого гранулювання.

Таблиця 1

#### Технологічні характеристики досліджуваних субстанцій

Найменування субстанції	Насипна густина, г/см <sup>3</sup>	Насипний об'єм, г/см <sup>3</sup>	Пресованість, Н	Плинність, г/с
Тіоктова кислота («Shanghai modern pharmaceutical Co., LTD», Китай)	0,417±0,01	0,278±0,01	70-90	0,375±0,05
Таурин («Jiangsu Yuanyang Chemicals Limited Company», Китай)	0,527±0,01	0,555±0,01	5-6	1,875±0,01

### Список літератури

1. Балаболкин М.И. Диабетология / Балаболкин М.И. – М.: Медицина, 2000. – 672с.
2. Бурова И.И. Гипогликемическое действие таурина / Бурова И.И., Докшина Г.Я., Шустова Т.И. // Вop. мед. химии. – 1994. – Т. 30, вып. 6. – С. 15–17.
3. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
4. Державна Фармакопея України Допов. 2 / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 620 с.
5. Державна Фармакопея України Допов. 3/ Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 280 с.
6. Емшанова С.В. О контроле размера и формы частиц лекарственных веществ / Емшанова С.В., Садчикова Н.П., Зуев А.П. // Хім-фармац. журн. – 2007. – Т. 41, №1. – С. 41–49.
7. Емшанова С.В. Обеспечение качества отечественных лекарственных средств (оптимизация технологии и совершенствование стандартизации таблетированных лекарственных форм): автореф. дис...д. фарм. н.: спец.15.00.01 «Технология лекарств и организация фармацевтического дела»/ С.В. Емшанова – М., 2007. – 48 с.
8. Коваленко Св.М. Актуальність створення сучасних препаратів для лікування і профілактики ускладнень цукрового діабету на основі таурину // Український вісник психоневрології. – 2010. – Т. 18, вип. 2 (63). – С. 85–86.
9. Коваленко Св.М. Обґрунтування актуальності розробки комбінованих лікарських засобів на основі тіоктової кислоти // Мат. Всеукраїнської наукової конференції. – Х.: Вид-во НФаУ, 2011. – С. 203.
10. Корпачев В.В. Тиоктовая кислота: проблемы и перспективы использования. Корпачев В.В. Щербак А. // Вісник фармакології та фармації. – 2003. – №3. – С. 28.
11. Рудакова И.Г. Диабетическая нейропатия / Рудакова И.Г. – М.: Медицина, 2000. – 232 с.
12. American Diabetes Association: Standards of medical care in diabetes 2008 // Diabetes Care. – 2008. – Vol. 31, Suppl. 1. – P. 12–54.
13. Huizinga M. Weight-loss pharmacotherapy: a brief review / Huizinga M. // Clinical Diabetes. – 2007. – Vol. 25, №4. – P. 135–140.
14. Vinik A. Diabetic Autonomic Neuropathy / Vinik A., Maser R., Mitchell B., Freeman R. // Diabetes Care. – 2003. – №26. – P. 1553–1579.
15. Melhem M.F. Alpha-lipoic acid attenuates hyperglycemia and prevents glomerular mesangial matrix expansion in diabetes / Melhem M.F., Craven P.A., Liachenko J et al. // J Am Soc Nephrol. – 2002. – №13 (1). – P. 108–116.

### Відомості про авторів:

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

### Адреса для листування:

Коваленко Світлана Миколаївна. 61168, м. Харків, вул. Блюхера,4, каф. управління якістю НФаУ.

Тел.: (057) 755 70 82.

E-mail: lana\_koval@mail.ru.

Надійшла в редакцію 29.12.2011 р.



О.С. Разкевич

## Дослідження протизапальних властивостей мазевої композиції Мареполіміел

Одеський національний медичний університет

**Ключові слова:** Мареполіміел, Вулнузан, гідрофільна мазь, протизапальна активність.

**Ключевые слова:** Мареполіміел, Вулнузан, гидрофильная мазь, противовоспалительная активность.

**Key words:** Marepolymyel, Vulnusan, hydrophilic ointment, anti-inflammatory activity.

Досліджено протизапальну активність гідрофільної мазевої композиції мінералів морської води Мареполіміел, що при різних експериментальних моделях запалення (карагенинова, гістамінова, серотонінова) та в умовах відтворення моделі ад'ювантного артриту у тварин за виразністю переважає референс-препарат мазь Вулнузан.

Изучена противовоспалительная активность гидрофильной мазевой композиции минералов морской воды Мареполіміел, которая при разных экспериментальных моделях воспаления (карагениновая, гистаминовая, серотониновая), а также на модели адьювантного артрита у животных по степени выраженности превосходит референс-препарат мазь Вулнузан.

It was studied the anti-inflammatory activity of hydrophilic ointment composition of marine water minerals Marepolymyel. It was detected that this ointment his more effective than reference medicine – ointment “Vulnusan” using experimental models of inflammation (karragin, histamin and serotonin) and adjuvant arthritis model.

Відомо, що лікарські препарати на основі деяких мінералів, зокрема магнію, широко застосовують у якості протизапальних засобів в бальнеології та косметології [10,11,13]. Зокрема, встановлено виразні протизапальні властивості мінералу бішофіт, що містить максимальну кількість магнію хлориду (до 95–96% в сухому залишку) [5,8,9]. У лікарській практиці стандартизований розчин бішофіту Полікатан використовують для місцевої терапії запальних захворювань слизової оболонки (риніти, синусити, тонзиліти, стоматити тощо). В Україні в бальнеологічній практиці широко застосовують розчин полтавського бішофіту [1,2]. Серед лікарських засобів мінерального походження в лікуванні хвороб шкіри активно використовують закордонні препарати на основі поморійської ропи – Полімінерол і Вулнузан (Болгарія), що характеризуються протизапальною дією, зменшують проникність кровоносних судин, стимулюють фагоцитоз, покращують регенерацію тканин, мають незначний місцевий анальгетичний ефект [4]. В Ізраїлі для лікування запальних хвороб шкіри активно використовують мазі на основі мінералів Мертвого моря. Проте в Україні, південні регіони якої надзвичайно багаті на сировинні джерела мінералів, аналогів подібних мазевих препаратів, незважаючи на відомі лікувальні властивості ропи Одеських лиманів та морської води, досі не створено.

Науковці ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України» зі стандартизованого концентрату морської води отримали полімікроелементний препарат Мареполіміел, що являє собою природний комплекс метаболітів у вигляді металоорганічних сполук і солей мікроелементів, а також органічних речовин, що відіграють важливу роль в обмінних процесах організму. Ін'єкційний препарат Мареполіміел пройшов клінічну апробацію

і затверджений Фармакологічним комітетом МОЗ України для медичного застосування при лікуванні глаукоми, дистрофічних захворювань сітківки, туберкульозу легенів, пневмоній, церебральному атеросклерозу, хронічних запальних процесів придатків матки, професійних і вікових патологій. Мареполіміел підвищує неспецифічну резистентність організму, активно впливаючи на метаболічні й регенераторні процеси, імунологічну реактивність, має виразну фармакотерапевтичну активність при впливі на організм кисневого голодування і токсичних речовин, характеризується гепатопротекторною, противираковою, протизапальною, антиоксидантною активністю [3,7]. Наявність широкого спектра загальнометаболічної дії цього полімікроелементного препарату могло б позитивно вплинути на перебіг ранозагоювального процесу в умовах його застосування при місцевому лікуванні запальних і ранових пошкоджень шкіри різного генезу.

У 2011 році в рамках міжкафедральної НДР кафедр фармацевтичної хімії, фармакогнозії і технології ліків Одеського національного медичного університету «Створення та дослідження препаратів протизапальної і репаративної дії на основі регіональної природної сировини» на кафедрі технології ліків створено гідрофільні мазеві композиції препарату Мареполіміел з різною концентрацією мінералів. Попередніми дослідженнями встановлено, що оптимальною за біофармацевтичними параметрами є гідрофільна мазева композиція на основі ПЕГ-400 і ПЕГ 1500, що виявляє найбільшу протизапальну активність порівняно з іншими гідрофільними мазевими основами [6].

### Мета роботи

Визначення порівняльної протизапальної активності оптимальної за біофармацевтичними параметрами мазевої композиції Мареполіміел і зарубіжного аналогу

(мазі Вулнузан), що досить широко застосовується у вітчизняній дерматології при лікуванні запальних хвороб шкіри різного генезу.

#### Матеріали і методи дослідження

Експериментальні дослідження виконано на 48 білих нелінійних щурах масою 180–220 г, вирощених у розпліднику віварію Одеського національного медичного університету на стандартному раціоні згідно до санітарно-гігієнічних норм і вимог GLP. Протизапальну дію мазевих композицій оцінювали за впливом на ексудативну фазу запалення, що викликали шляхом інтраплаттарного введення 0,1 мл таких флогогенних агентів, як каррагенін (ICN, США) (2% водний розчин), гістамін (ООО «Біохеміка», РФ) (0,1% розчин) та серотонін (ICN, США) (0,005% водний розчин). Референс-препаратом була мазь Вулнузан (Sopharma – Pharmachim, Болгарія), що являє собою стандартизовану емульсію маточного луку Поморійського озера в касторовому маслі й ланоліні [4]. Вона містить комплекс макро- і мікроелементів, а також колоїди та інші речовини органічного походження. В групі тварин, у яких набряк викликали каррагеніном, нанесення мазі Мареполіміел та препарату порівняння Вулнузан проводили 3-разово: відразу ж після введення каррагеніну, а також через 1 та 3 години протягом терміну розвитку набряку. При введенні тваринам гістаміну й серотоніну аплікацію мазей здійснювали відразу ж після введення флогогенних агентів і через 1 годину відповідно.

Величину набряку лапи щура встановлювали за допомогою спеціального приладу й вираховували за формулою:

$$D = (I/O) \times 100 - 100,$$

де D – флогестичний ефект;

0 – об'єм лапи до введення флогогенного агента;

I – об'єм лапи після введення флогогенного агента.

При відтворенні каррагенінового набряку наступні вимірювання об'єму лапи здійснювали через 3 та 5 годин після введення флогогенного агента, а при

моделюванні гістамінового і серотонінового набряків подібні вимірювання проводили через 1 і 3 години.

Експериментальну оцінку впливу досліджуваних мазей на перебіг ад'ювантного артриту у щурів, який є експериментальною моделлю ревматоїдного артриту, проводили на 24 тваринах. Щурів розподілили на 3 групи (по 8 щурів у кожній): 1 група – контрольна; 2 група – дослідна, тварини якої отримували аплікації мазі Мареполіміел; 3 група – дослідна, щури якої отримували аплікації мазі Вулнузан у якості препарату порівняння. Ад'ювантний артрит викликали шляхом введення 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда підшкірно у ліву задню лапу щурів [12]. Виразність патологічного процесу оцінювали за величиною набряку задньої лапки після введення ад'юванту, який реєстрували волюметричним методом. Мазі наносили з часу відтворення ад'ювантного артриту щоденно до закінчення експерименту, а об'єм лапи реєстрували відповідно через 3, 6, 10 та 14 діб. Величину набряку вираховували за формулою:

$$D = (I/O) \times 100 - 100,$$

де D – величина набряку лапи;

0 – об'єм лапки до введення ад'юванта Фрейнда;

I – об'єм лапи після введення ад'юванта Фрейнда.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою критерію Стьюдента.

#### Результати та їх обговорення

Встановлено, що після введення флогогенного агента каррагеніну у тварин контрольної групи спостерігали виразний набряк лапки, що зростав поступово і був максимальним через 4–5 годин спостережень. У зоні набряку фіксували ціаноз, а тварини при переміщенні, внаслідок болі, уникали наступання на зазначену лапку. Мазева композиція Мареполіміел і препарат порівняння Вулнузан з різною ефективністю пригнічували виразність ексудативної фази запального процесу. Дані щодо порівняльного впливу обох мазей на запальний процес, викликаний введенням каррагеніну, наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Вплив маzewої композиції Мареполіміел і препарату порівняння Вулнузан на зміну об'єму задньої лапи щурів (в %) (n=8) при різних моделях запалення (M±m)**

Тривалість спостереження (год)	Контроль	Мазь Мареполіміел	Мазь Вулнузан
Каррагенінова модель			
3	96,8±4,7	77,0±3,3 *#	88,1±3,5
5	114,5±6,6	73,2±6,0 * #	94,6±5,0 *
Гістамінова модель			
1	44,3±3,1	32,0±3,8 *	35,1±4,0*
3	34,1±3,0	22,5±3,4 *	25,9±2,8 *
Серотонінова модель			
1	82,6±4,5	63,1±3,3 *#	73,7±4,2
3	62,9±4,0	42,2±4,1 *#	51,2±2,9 *

Примітки: \* – зміни достовірні відносно до контрольної групи тварин (P<0,05); # – зміни достовірні відносно до групи тварин, які отримували Вулнузан (P<0,05).

При відтворенні гістамінової моделі запалення введення гістаміну викликало у тварин набряк, ціаноз кінцівки та біль, що підтверджувалось характерною поведінкою щурів. Максимальний набряк лапки спостерігали через 1 годину після введення флогогенного агента, він дорівнював +44,3% (P<0,05). Наведені в таблиці 1 дані свідчать, що мазева композиція Мареполіміел, як і в умовах попередньої моделі запалення, мала виразну протизапальну дію, зменшуючи набряк лапки після введення гістаміну через 1 годину на 27,7% (P<0,05), через 3 години – відповідно на 34,0% (P<0,05). Водночас, препарат порівняння Вулнузан поступався за активністю протизапальної дії і зменшував набряк лапки щурів після введення гістаміну через 1 годину на 20,7% (P<0,05), а через 3 години спостережень – на 24,0% (P<0,05).

При відтворенні серотонінової моделі запалення введення серотоніну викликало максимальний набряк лапки щурів приблизно через 1 годину. При цьому збільшення об'єму лапи становило +82,6% (P<0,05), через 3 години набряк зменшувався до +62,9% (P<0,05). У тварин, які отримували аплікації Мареполіміелу, набряк лапи через 1 годину після введення серотоніну був меншим, порівняно з контрольною групою на 21,1% (P<0,05), через 3 години – на 32,9% (P<0,05). У тварин, які отримували аплікації Вулнузану, відповідний показник через 1 годину зменшувався на 10,7% (P>0,05), а через 3 години – на 18,6% (P<0,05). Встановлено, що на моделі набряку, викликаного введенням серотоніну, мазева композиція Мареполіміел виявила протизапальну активність, яка за виразністю переважає препарат порівняння Вулнузан.

При дослідженні протизапальних властивостей мазей на моделі ад'ювантного артриту піддослідним тваринам у задню лапку вводили повний ад'ювант Фрейнда. При цьому у тварин розвивався ревматоїдний артрит, що є рівноцінною моделлю ревматоїдного артриту людини [12]. Після введення ад'юванта в групі контрольних тварин спостерігали набряк задньої лапки, що розповсюджувався на суглоб. Рухливість ураженої кінцівки різко обмежена, внаслідок болі тварини уникали пересування. Протягом перших діб після введення флогогену у тварин спостерігали в'ялість та адинамію. Як свідчать дані, наведені в таблиці 2 та на рис. 1, мазь Мареполіміел позитивно впливає на перебіг артриту у тварин, викликаного введенням ад'юванту Фрейнда. В умовах її застосування у тварин достовірно зменшувався набряк лапи. Так, через 3 доби експерименту у щурів, що отримували аплікації Мареполіміела, величина набряку лапки порівняно з контрольною групою зменшувалась на 12,7% (P>0,05), через 6 діб – на 26,0% (P<0,05), через 10 діб – на 36,8% (P<0,05), через 14 діб цей показник склав 41,5% (P<0,05) (рис. 1).

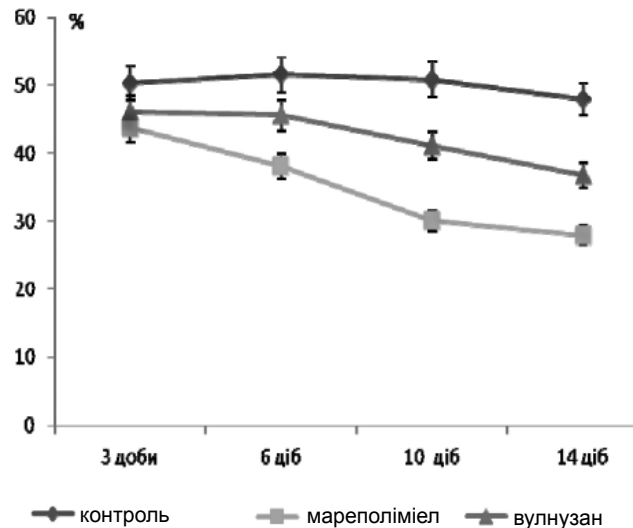


Рис. 1. Порівняльна протизапальна активність мазі Мареполіміел і Вулнузан при ад'ювантному артриті (в % збільшення відносно до об'єму лапи інтактних щурів).

Таблиця 2  
Вплив мазевої композиції Мареполіміел та препарату порівняння Вулнузан на зміни об'єму задньої лапи щурів (в %) (n=8) при ад'ювантному артриті (M±m)

Тривалість спостереження (доби)	Контроль	Мазь Мареполіміел	Мазь Вулнузан
3	50,2±3,4	43,8±3,2	46,1±4,1
6	51,5±3,3	38,1±2,8 *	45,5±3,9
10	50,8±2,6	30,1±3,1*#	41,1±3,0*
14	47,9±3,1	28,0±2,1*#	36,7±2,3*

Примітки: \* – зміни достовірні відносно до контрольної групи тварин (P<0,05); # – зміни достовірні відносно до групи тварин, які отримували Вулнузан (P<0,05).

Препарат порівняння Вулнузан за умов даної моделі патології виявив меншу активність. Зокрема у тварин, які отримували аплікації Вулнузану, зменшення набряку через 3 доби експерименту склало 8,1% (P>0,05), через 6 діб – 11,6% (P>0,05), через 10 діб – 19,1% (P<0,05), через 14 діб – 23,4% (P<0,05).

Отже, встановлено, що мазь, яка містить 50% комплексу мінералів Мареполіміел, виявила виразніший протизапальний ефект на моделі експериментального ревматоїдного артриту, порівняно з препаратом порівняння Вулнузан. В усі терміни спостережень перебігу ад'ювантного артриту протизапальна активність Мареполіміелу переважала референс-препарат в 1,5–1,9 рази.

Таблиця 3  
Порівняльний вплив мазевої композиції Мареполіміел і препарату порівняння Вулнузан на зміни об'єму задньої лапи щурів (в %) (n=8) при різних моделях запалення (M±m)

Мазева композиція	Модель набряку			
	Каррагенінова	Гістамінова	Серотонінова	Ад'ювантний артрит
Мареполіміел	-36,1*#	-34,0*	-32,9*#	-41,5*#
Вулнузан	-17,3*	-24,0*	-18,6*	-23,4*

Узагальнені дані порівняння протизапальної активності мазевої композиції Мареполіміел і мазі Вулнузан при різних експериментальних моделях запалення наведено в таблиці 3.

#### Висновок

Узагальнюючи отримані дані, можна зробити висновок про наявність у гідрофільної мазевої композиції на основі

мінералів морської води Мареполіміелу протизапальної активності, що при різних експериментальних моделях запалення (карагенінова, гістамінова, серотонінова), а також в умовах відтворення експериментальної моделі ад'ювантного артрити у тварин за виразністю переважає референс-препарат (мазь Вулнузан).

#### Список літератури

1. Золотарьова Т.А. Функціонально-структурні зміни слизової оболонки шлунка шурів при іммобілізаційно-холодовому стресу під впливом внутрішнього призначення розчину бішофіту в умовах експерименту / Т.А. Золотарьова, Н.В. Драгомирецька, Н.О. Шевченко, Б.А. Насібуллін // Вісник Вінницького нац. мед. ун-ту. – 2011. – №1. – С. 12–16.
2. Казаков Ю.М. Полтавський бішофіт у практиці сімейного лікаря / Ю.М. Казаков, В.В. Єжов, Л.Д. Тондій та ін. // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2009. – №12. – С. 245.
3. Коновалова Н.В. Эффективность мареполимизла в комплексном лечении увеитов туберкулезной этиологии / Н.В. Коновалова // Офтальмол. журнал. – 2010. – №1. – С. 34–37.
4. Машковский М.Д. Лекарственные / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2010. – 1216 с.
5. Мотов А.А. Экспериментальное исследование фармакологических свойств гидрофильных мазей бишофита: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.25 «Фармакология» / А.А. Мотов. – Пятигорск, 2006. – 20 с.
6. Рожковський Я.В. Фармакотерапевтична ефективність гідрофільної мазі комплексу мінералів лиманної ропи / Рожковський Я.В., Разкевич О.С. // IV Національний з'їзд фармакологів України, 10–12 жовтня 2011 р.: тези доп. – Київ, 2011. – С. 271–272.
7. Сотнікова О.П. Вплив деяких метаболітичних засобів на виразність і тривалість цитохімічних змін окремих структур зорового аналізатора / О.П. Сотнікова, Т.Ю. Іванічук // Одеський медичний журнал. – 2011. – №3. – С. 29–33.
8. Спасов А.А. Противовоспалительное действие бишофитной мази / А.А. Спасов, Т.А. Оробинская, Л.С. Мазанова и др. // Эксперим. и клинич. Фармакология. – 2007. – №6. – С. 32–35.
9. Спасов А.А. Влияние гидрофильной мази минерала бишофит на процессы регенерации инфицированной кожной раны / А.А. Спасов, Т.А. Оробинская, Л.С. Мазанова и др. // Вопр. биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – №9. – С. 26–29.
10. Сысуйев Б.Б. Проблемы создания на основе минерала бишофит эффективных лекарственных форм / Б.Б. Сысуйев, И.Ю. Митрофанова, Э.Ф. Степанова // Фундаментальные исследования. – 2011. – №6. – С. 218–221.
11. Чекман І.С. Мангієвмісні препарати: фармакологічні властивості, застосування / І.С. Чекман, І.Ф. Беленічев, Н.А. Горчакова та ін. – Запоріжжя, Київ: Вид-во ЗДМУ, 2007. – 124 с.
12. Theisen-Popp P. Antirheumatic drug profiles evaluated in the adjuvant arthritis of rats by multiparameter analysis / P. Theisen-Popp, R. Muller-Peddinhous // Agents Actions. – 1994. – №42. – P. 50–55.
13. Yoshizawa Y. Water, salt and skin barrier of normal skin / Y. Yoshizawa // Skin research and technology. – 2003. – №9. – P. 31–33.

#### Відомості про автора:

Разкевич О.С., асистент каф. фармакогнозії ОНМУ.

#### Адреса для листування:

Разкевич Олеся Степанівна. 65114, м. Одеса, вул. Топольова, буд. 24, кв. 27.

E-mail: razkevich1984@ukr.net

Надійшла в редакцію 27.12.2011 р.





В.І. Гусаров, С.М. Коваленко, Л.В. Євсєєва

## Виділення жовчних кислот з жовчі великої рогатої худоби

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** жовчні кислоти, холева кислота, дезоксихолева кислота, виділення.

**Ключевые слова:** желчные кислоты, холевая кислота, дезоксихолева кислота, выделение.

**Key words:** bile acids, cholicacid, deoxycholicacid, isolation.

Запропоновано спосіб виділення та отримано препаративні кількості індивідуальних жовчних кислот – холевой та дезоксихолевої – зі свіжої та висушеної жовчі великої рогатої худоби, а також з жовчі, що зберігалась 1 рік. Структуру сполук підтверджено даними спектроскопії ЯМР  $^1\text{H}$  та мас-спектрометрії, а чистоту – хроматографічними методами.

Предложен способ выделения и получены препаративные количества индивидуальных желчных кислот – холевой и дезоксихолевой – из свежей и высушенной желчи крупного рогатого скота, а также из желчи, хранившейся 1 год. Структура соединений подтверждена данными спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и масс-спектрометрии, а чистота – хроматографическими методами.

A method for isolating and purify preparative quantities of individual bile acids was proposed. Cholic and desoxycholic acids were obtained from fresh and dried bovine bile and of bile, which was kept 1 year. The structure of the compounds was confirmed by NMR  $^1\text{H}$  and mass spectrometry data. Purity of compounds was confirmed by chromatography.

Пошук нових фармакологічно активних сполук і подальше створення на їх основі лікарських препаратів є одним із найважливіших завдань фармацевтичної науки. Перспективними об'єктами досліджень є жовчні кислоти (ЖК), що застосовуються як самостійні лікарські засоби [1], так і в якості матриць для моделювання нових біологічно активних молекул за рахунок закріплення на них структурних елементів-фармакофорів [2–8]. У результаті на базі структур ЖК створено сполуки з широким спектром біологічної дії: антимікробною, протівірусною [2,3], цитостатичною [4–6], гіпоглікемічною [7,8] тощо.

Жовчні кислоти (рис. 1) належать до стероїдів і є похідними холанової кислоти. Первинні ЖК – холева (ХК) і хенодезоксихолева – синтезуються в печінці. Вторинні – дезоксихолева (ДЖК) і літохолева – утворюються в тонкій кишці з первинних кислот під дією бактерійної мікрофлори. У жовчі людини містяться також алохолева і урсодезоксихолева кислоти – стереоізомери відповідно

холевой та хенодезоксихолевої кислот. У фізіологічних умовах ЖК вони зв'язані у кон'югати з гліцином або таурином [9].

ЖК відіграють важливу роль у перетравленні і всмоктуванні ліпідів за рахунок поверхнево-активних властивостей. Ще одна суттєва роль ЖК – регуляція синтезу та деградації холестерину та інших стероїдів, зокрема гормонів. ЖК беруть участь у регуляції екскреторної функції печінки. Жовчні солі діють як фізіологічні послаблюючі речовини, підсилюючи перистальтику кишечника [10,11].

Методи отримання вільних ЖК з жовчі зводяться до гідролізу їх кон'югатів за допомогою лугів [12,13,14] або ферментів [15] (рис. 2).

### Мета роботи

Розробка методу препаративного виділення з жовчі індивідуальних ЖК з чистотою більше 99% для використання у якості стандартів та для подальшого синтезу похідних ЖК.

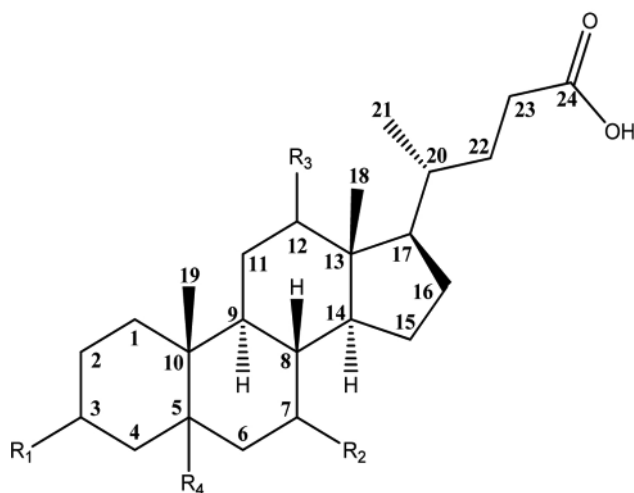


Рис. 1. Структура деяких жовчних кислот.

$R_1 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_2 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_4 = \beta\text{-H}$  – холева кислота

$R_1 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_2 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \beta\text{-H}$  – хенодезоксихолева кислота

$R_1 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_4 = \beta\text{-H}$  – дезоксихолева кислота

$R_1 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \beta\text{-H}$  – літохолева кислота

$R_1 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_2 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_4 = \alpha\text{-H}$  – алохолева кислота

$R_1 = \alpha\text{-OH}$ ,  $R_2 = \beta\text{-OH}$ ,  $R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \beta\text{-H}$  – урсодезоксихолева кислота

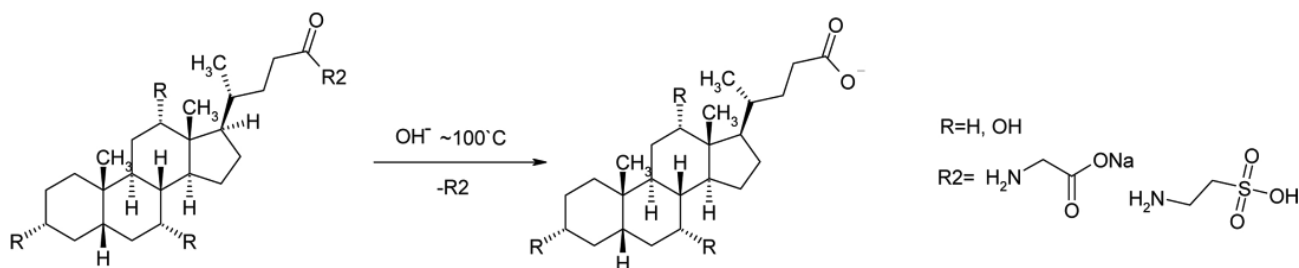


Рис. 2. Схема гідролізу кон'югатів жовчних кислот.

### Матеріали і методи дослідження

Для аналітичної тонкошарової хроматографії (постадійний контроль) застосовували алюмінієві пластинки Silufol® UV-254. Проявник – 5% розчин фосфорномолибденової кислоти в ізопропанолі. Для колонкової хроматографії низького тиску використовували силікагель марки КСК з розміром часток від 0,25 до 0,75 мм та адаптований високоєфективний рідинний хроматограф VarianProStar (насосиProStar 210, УФ-спектрофотометричний детектор ProStar 325). Температуру плавлення визначали на блоці Кофлера. Мас-спектри отримано на мас-спектрометрі PE SCIEX API 165. Спектри <sup>1</sup>H-ЯМР записано на спектрометрі VarianMercury 200 (робоча частота – 200 МГц) в ДМСО-d<sub>6</sub>, внутрішній стандарт – ТМС.

### Результати та їх обговорення

Об'єктами дослідження була жовч великої рогатої худоби свіжа, жовч, яку зберігали при кімнатній температурі протягом року, і висушена жовч.

Для отримання вільних ЖК до 1,0 л сирової жовчі додавали 100 г гідроксиду калію і кип'ятили протягом 20 год. Наявність вільних ЖК та їх кон'югатів у процесі гідролізу контролювали за допомогою ТШХ (система розчинників: етилацетат – метанол – вода (77:15:8)). Після закінчення реакції розчин охолоджували, додавали кислоту хлористоводневу концентровану до рН 3,5. Рідину відділяли декантацією, отриману зелену аморфну масу, що містила суміш вільних ЖК і жовчних пігментів, подрібнювали та висушували (час сушіння – близько 2 тижнів).

При виділенні вільних ЖК з висушеної жовчі («Жовч очищена, суха», виробництво ДП «ЕЗМП ІБОНХ НАН України», ТУ 10.02.01.112-89), її розчиняли в 10% розчині КОН з розрахунку 100 г сухої жовчі на 1 л розчину. Гідроліз проводили за методикою, яку використовували для свіжої жовчі. Суттєвих відмінностей у процесі не спостережено.

При виділенні вільних ЖК з жовчі, яку зберігали протягом 1 року при кімнатній температурі, спочатку відфільтровано воскоподібний продукт оранжевого кольору, що утворився за цей час у жовчі. Його маса складала 6 г на 1 л жовчі. Імовірно, продукт є сумішшю тваринного жиру і пігментів жовчі. Відокремлення цього продукту змінило характер отриманої після гідролізу суміші ЖК: замість аморфної маси виділяли дрібні кристали, що добре піддавались фільтруванню й висушуванню за 4–5 дб.

Залежно від того, які ЖК планували отримувати (тільки ХК або ХК та ДХК), використано різні методики виділення.

Для отримання ХК висушений порошок суміші вільних ЖК кип'ятили зі зворотним холодильником 30 хв з 40 мл абсолютного етанолу, охолоджували та залишали при +5°C. Через добу утворювались кристали, що відокремлювали, промивали та двічі перекристалізували з абсолютного етанолу. Отримували ХК у вигляді кристало-сольвату з етанолом. Структуру сполуки доведено результатами ПМР-спектроскопії. Після висушування при температурі 140°C до постійної маси спостерігали зникнення сигналів, що відповідають протонам етанолу. Вихід ХК з сирової жовчі складає 12,4 г з 1 л. Вихід ХК з сухої жовчі – 14,1 г з 100 г сировини.

У разі, якщо потрібно виділити ХК і ДХК, суміш кислот, отриману після гідролізу, розчиняли при кип'ятінні у 120 мл 10% розчину гідроксиду натрію, розбавляли до 1,2 л і додавали хлористоводневу кислоту до рН 8 за універсальним індикатором. Суміш нагрівали до кипіння, додавали розчин хлористого магнію (9,7 г MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O в 10 мл киплячої води). Осад, що виділився, відфільтровували та відкидали. Фільтрат нагрівали до кипіння, додавали розчин хлористого магнію (48 г MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O в 55 мл окропу) і нагрівали протягом години до 95–100°C. Отриману масу охолоджували до 25–30°C, а магнієву сіль ДХК, що утворилась, відфільтровували, промивали невеликою кількістю холодної води, перекристалізували спочатку з 60% оцтової кислоти (двічі), потім з метанолу (двічі). Вихід 2,1 г з літру жовчі. Холеву кислоту з фільтрату виділяли за описаною методикою. Перекристалізували з метилового спирту. Вихід – 13 г ХК з 1 л жовчі.

Після кристалізації маточні розчини, що містили невелику кількість ХК та накопичували ДХК та інші ЖК, переробляли. Спочатку упарювали розчинник, потім розділяли на складові за допомогою колонкової хроматографії. Використовували колонку діаметром 2,5 см та 1 м заввишки. У якості елюенту використовували етилацетат. Збирали фракції по 15 мл. Всього отримано 92 фракції. Контроль складу фракцій проводили методом ТШХ. Фракції, що мали схожий склад, об'єднували, розчинник упарювали.

Фракції 9–11 утворили темний маслянистий осад масою менше 1 мг. Надалі не використовували.

З фракцій 13–17 отримано дрібні, забарвлені у жовтуватий колір кристали, маса 150 мг. За результатами ТШХ та ПМР ідентифіковані як ДХК.

З фракцій 38–54 отримано великі жовтуваті кристали (1,9 г). За результатами ТШХ, ПМР і температурою плавлення ідентифіковані як аллохолева кислота.

Фракції 67–72 утворили білий аморфний порошок (0,7 г). За результатами ТІХ та ПМР ідентифіковані як ХК.

Об'єднані фракції 18–25 і 26–35 мали вигляд аморфних мас зеленого кольору і містили принаймні по 3 компоненти. Розділені за допомогою препаративної хроматографії низького тиску на скляній хроматографічній колонці розміром 90 × 2,5 см. Швидкість рухомої фази складала 20 мл/хв. Тиск на колонці – 8–10 атм. Детектування проводили за довжини хвилі 254 нм.

Для хроматографування об'єднаної фракції 26–35 для нанесення на колонку суміш розчиняли у мінімальній кількості метанолу, у якості рухомої фази використовували суміш метанол – хлороформ (1:3). Час аналізу склав 35 хв. Зібрано 3 фракції, перша містила ДХК, третя – аллохолову кислоту. Друга виявилась їх сумішшю, надалі не використана.

Для хроматографування об'єднаної фракції 18–27 для нанесення на колонку суміш розчиняли у мінімальній кількості метанолу, у якості рухомої фази використовували суміш гексан – хлороформ – метанол (2:2:1). Час аналізу склав 50 хв. Отримано додаткову кількість кристалів, ідентичних кристалам з фракції 38–54 (аллохолова кислота), та не ідентифіковану кристалічну речовину стероїдної структури (за даними ПМР).

(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ )-3,7,12-тригідроксихолан-24-ова кислота (холева кислота). M/z: 355,4; 373,5; 391,2. <sup>1</sup>H-ЯМР,  $\delta$ , м.д.: 0.56 (s, 3H, C-18), 0.80 (s, 3H, C-19), 0.92 (d, 3H,

C-2, J=4.2 Hz), 1.35 (m, 12H), 1.68 (m, 6H), 2.12 (m, 6H), 3.35 (m, 1H, C-7), 3.58 (m, 1H, C-3), 3.75 (m, 1H, C-12), 4.02 (d, 1H, OH-7), 4.12 (d, 1H, OH-3), 4.33 (d, 1H, OH-12), 11.85 (sbr, 1H, COOH-24). Tпл = 198°C;

(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,12 $\alpha$ )-3,12-дигідроксихолан-24-ова кислота (дезоксихолева кислота). <sup>1</sup>H-ЯМР,  $\delta$ , м.д.: 0.54 (s, 3H, C-18), 0.88 (s, 3H, C-19), 0.94 (d, 3H, C-2, J=4.1 Hz), 1.28 (m, 14H), 1.67 (m, 8H), 2.15 (m, 2H), 3.75 (s, 1H, C-12), 4.19 (d, 1H, C-12), 4.45 (s, 1H), 12.03 (s br, 1H, COOH-24). Tпл = 177°C.

(3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ )-3,7,12-тригідроксихолан-24-ова кислота (аллохолова кислота). <sup>1</sup>H-ЯМР,  $\delta$ , м.д.: 0.56 (s, 3H, C-18), 0.80 (s, 3H, C-19), 0.92 (d, 3H, C-2, J=4.2 Hz), 1.35 (m, 12H), 1.68 (m, 6H), 2.12 (m, 6H), 3.35 (m, 1H, C-7), 3.58 (m, 1H, C-3), 3.75 (m, 1H, C-12), 4.02 (d, 1H, OH-7), 4.12 (d, 1H, OH-3), 4.33 (d, 1H, OH-12), 11.85 (sbr, 1H, COOH-24). Tпл = 186°C;

#### Висновки

Розроблено спосіб виділення індивідуальних жовчних кислот та отримано близько 80 г холевої і близько 3 г дезоксихолевої кислоти.

Розроблено методику препаративного хроматографічного виділення індивідуальних первинних і вторинних ЖК методом рідинної хроматографії.

Методом препаративної рідинної хроматографії отримано стандартні зразки ХК, ДХК, аллохолової кислоти.

#### Список літератури

1. *Машковський М.Д.* Лекарственные средства / Машковський М.Д. – 15-е изд., перераб. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2007. – 1200 с.
2. *Lehmann T.J.* Synthesis and Properties of Bile Acid Phosphoramidites 5'-Tethered to Antisense Oligodeoxynucleotides Against HCV / T.J. Lehmann, J.W. Engels // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2001. – Vol. 9, №7. – P. 1827–1835.
3. *Reinke R.A.* Dicafeoyltartaric Acid Analogues Inhibit Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Integrase and HIV-1 Replication at Nontoxic Concentrations / R.A. Reinke, P.J. King, J.G. Victoria // *Journal Of Medicinal Chemistry*. – 2002. – Vol. 45, №17. – P. 3669–3683.
4. *Li M.* Synthesis of Gymnasterone B, an antitumor steroid from *Gymnascelladankaliensis* / M. Li, P. Zhou, A. Wu // *Tetrahedron Letters*. – 2006. – Vol. 47, №20. – P. 3409–3412.
5. *Paschke R.* Novel spacer linked bile acid–cisplatin compounds as a model for specific drug delivery, synthesis and characterization / R. Paschke, J. Kalbitz, C. Paetz // *Inorganica Chimica Acta*. – 2000. – Vol. 304, №2. – P. 241–249.
6. *Paschke R.* Cholic acid–carboplatin compounds (CarboChAPt) as models for specific drug delivery: synthesis of novel carboplatin analogues derivatives and comparison of the cytotoxic properties with corresponding cisplatin compounds / R. Paschke, J. Kalbitz, C. Paetz // *Journal Of Inorganic Biochemistry*. – 2003. – Vol. 94, №4. P. – 335–342.
7. *von Geldern T.W.* Liver-Selective Glucocorticoid Antagonists: A Novel Treatment for Type 2 Diabetes / T.W. von Geldern, N.T. Philip, K.T. James // *Journal Of Medicinal Chemistry*. – 2004. – Vol. 47, №17. – P. 4213–4230.
8. *Richards S.J.* Synthesis and activity of novel bile-acid conjugated glucocorticoid receptor antagonists / S.J. Richards, T.W. von Geldern, P. Jacobson // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2006. – Vol. 16, №23. – P. 6086–6090.
9. Химическая энциклопедия: В 5 т. / Гл. ред. И.Л. Кнунянц. – М.: Сов. энцикл., 1990. – Т. 2.
10. *Березов Т.Т.* Биологическая химия: Учебник / Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. – 3е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.
11. Наглядная биохимия: Справочное издание / Я. Кольман, К.Г. Рем. – М.: Мир, 2000. – 393 с.
12. *Гаттерман Л.* Практические работы по органической химии / Гаттерман Л., Виланд Г. – М.: Химия, 1948. – 516 с.
13. *Лазурьевский Г.В.* Практические работы по химии природных соединений. Методы выделения, разделения и идентификации / Г.В. Лазурьевский, И.В. Терентьева, А.А. Шамшурин. – М.: Высшая школа, 1961. – 192 с.
14. *Вульфсон Н.С.* Препаративная органическая химия / Вульфсон Н.С.; пер. с польск. В.В. Шпанова. – М.: ГХИ, 1959. – 888 с.
15. *Tonelli A.D.* Bile acid kinetics in man studied by radiothin-layer chromatography and densitometry coupling / Tonelli A.D., Gattavecchia E., Mazzella G. // *Journal Of Chromatography B*. – 1997. – Vol. 700, №24. – P. 59–66.

#### 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.

Євсєєва Л.В., ст. н. с. державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ.

#### Адреса для листування:

Гусаров Віктор Ігорович. 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, каф. управління якістю НФаУ. E-mail: gusarovi@ukr.net

Надійшла в редакцію 04.05.2011 р.



Д.Г. Іванченко<sup>1</sup>, М.І. Романенко<sup>1</sup>, Б.А. Самура<sup>2</sup>, А.В. Таран<sup>2</sup>, В.І. Корнієнко<sup>3</sup>

## Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 1,8-дизаміщених теоброміну. II. 1-*l*-хлоробензил-8-амінотеоброміни

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

<sup>3</sup>Харківська зооветеринарна академія

**Ключові слова:** теобромін, синтез, ПМР-спектроскопія, біологічна дія.

**Ключевые слова:** теобромин, синтез, ПМР-спектроскопия, биологическая активность.

**Key words:** theobromine, synthesis, NMR-spectroscopy, biological activity.

Розроблено прості лабораторні методи синтезу 8-аміно-1-*l*-хлоробензилтеобромінів – потенційних біологічно активних речовин. Вивчено їх ПМР-спектроскопічні характеристики та біологічну дію.

Разработаны простые лабораторные методы синтеза 8-амино-1-*l*-хлоробензилтеоброминов – потенциальных биологически активных соединений. Изучены их ПМР-спектроскопические характеристики и биологическая активность.

Developed a simple laboratory methods for the synthesis of 8-amino-1-*l*-chlorobenzyltheobromines – potential biologically active compounds. Studied their NMR-spectroscopic characteristics and biological activity.

Широкий спектр біологічної дії та відпрацьовані шляхи метаболізму природних ксантинів привернули увагу дослідників ще у ХХ сторіччі. Хімічна модифікація ксантинового ядра дозволила створити цілий ряд нових похідних з різноманітною біологічною дією. Так, синтетичні похідні можуть бути використані в якості імуносупресорів, протиасматичних, протидіабетичних, гіпоглікемічних, діуретичних, аналгетичних, протизапальних засобів [1–6]. Також раніше показано перспективність пошуку біологічно активних сполук серед похідних теоброміну з аналгетичною, діуретичною та антиоксидантною активністю [7,8]. Отже, створення нових сучасних препаратів, що мають різноманітні біологічні властивості, є актуальним і перспективним напрямком.

### Мета роботи

Розробка простих лабораторних методів синтезу 8-аміно-1-*l*-хлоробензилтеобромінів і вивчення гострої токсичності, діуретичної, аналгетичної, протизапальної й антиоксидантної активності синтезованих сполук.

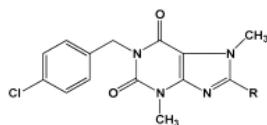
### Матеріали і методи дослідження

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним способом на приладі ПТП (М). Елементний аналіз виконано на приладі ElementarVarioLcube, ПМР-спектри знято на спектрометрі BrukerSF-400 (робоча частота 400 МГц, розчинник ДМСО-*d*6 або ДМСО-*d*6 + CDCl<sub>3</sub>, внутрішній стандарт – ТМС).

Аналітичні дані синтезованих сполук наведено в таблицях 1, 2.

Таблиця 1

### Величини хімічного зсуву в ПМР-спектрах 8-амінопохідних 1-*l*-хлоробензилтеоброміну (2-5)



Сполука	R	δ-шкала, м.ч.						
		CH <sub>аром</sub>	C <sup>8</sup> NH	N <sup>1</sup> CH <sub>3</sub> (с, 2H)	N <sup>7</sup> CH <sub>3</sub> (с, 3H)	N <sup>8</sup> CH <sub>3</sub> (с, 3H)	NCH <sub>2</sub>	Інші сигнали
2		7,33-7,23 (м, 4H)	6,62 (д, 1H)	4,96	3,56	3,37	3,65 (м, 1H)	2,0-1,6 (м, 5H) – αCH <sub>2</sub> ; 1,4-1,1 (м, 5H) – βCH <sub>2</sub>
3		7,31-7,23 (м, 9H)	7,52 (т, 1H)	4,97	3,62	3,36	4,54 (д, 2H)	–
4		7,36-7,25 (м, 9H)	–	5,00	3,77	3,40	4,48 (д, 2H)	2,90 (с, 3H) – NCH <sub>3</sub>
5		7,33-7,23 (м, 5H)+βCH піридину	7,60 (т, 1H)	4,96	3,61	3,37	4,54 (д, 2H)	8,56 (с, 1H)–αCH; 8,42 (д, 1H)–αCH; 7,73 (д, 1H) – γCH.

Таблиця 2

## Фізико-хімічні характеристики синтезованих сполук (2–5)

Сполука	T <sub>плавл</sub> , °C	Знайдено, %			Емпірична формула	Вирахувано, %			Вихід, %
		C	H	N		C	H	N	
2	171-172	60,05	6,28	17,15	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	59,77	6,02	17,43	71
3	219-220	61,24	5,25	16,79	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	61,54	4,92	17,09	71
4	111-112	62,60	5,02	16,75	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	62,34	5,23	16,52	71
5	243-244	58,77	5,01	20,18	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	58,47	4,66	20,45	69

## Синтез 8-аміно-1-п-хлоробензилтеобромінів (2–5)

Суміш 0,01 моль 8-бромо-1-п-хлоробензилтеоброміну (1), 0,03 моль відповідного аміну, 30 мл целосольву кип'яють 3 години, охолоджують, розводять водою, осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, водним пропанолом-2 та перекристалізують з водного етанолу.

Молекулярні дескриптори розраховували за допомогою комп'ютерних програм ALOGPS і DRAGON.

Гостру токсичність синтезованих сполук вивчено за методом Кербера [9] у дослідах на білих мишах вагою 18–24 г.

Вивчення діуретичної дії отриманих сполук проводили за методом Є.Б. Берхіна [10]. Синтезовані сполуки вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1/20 ЛД<sub>50</sub> у вигляді 3–5% тонкої водної суспензії, стабілізованої твіном-80 за 30 хв до водного навантаження. У якості еталону порівняння використовували гідрохлортиазид у дозі 25 мг/кг.

Анальгетичну дію синтезованих ксантинів вивчено на білих щурах вагою 160–210 г з використанням моделі «оцтових корчів», що викликають внутрішньоочеревинним введенням 0,75% розчину оцтової кислоти в дозі 1/20 ЛД<sub>50</sub> залежно від маси тіла. Протизапальну дію вивчено на білих щурах на моделі гострого асептичного набряку, викликаного субплантарним введенням у задню лапку щура 0,1 мл 1% розчину карагеніну [11]. У якості еталону порівняння використовували диклофенак натрію та анальгін у дозах 8 мг/кг і 25 мг/кг відповідно.

Антиоксидантну активність (АОА) вивчали *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окислення [12,13].

Дані з біологічної дії похідних 8-амінозаміщених 1-бензилтеобромінів наведено в таблиці 3.

## Результати та їх обговорення

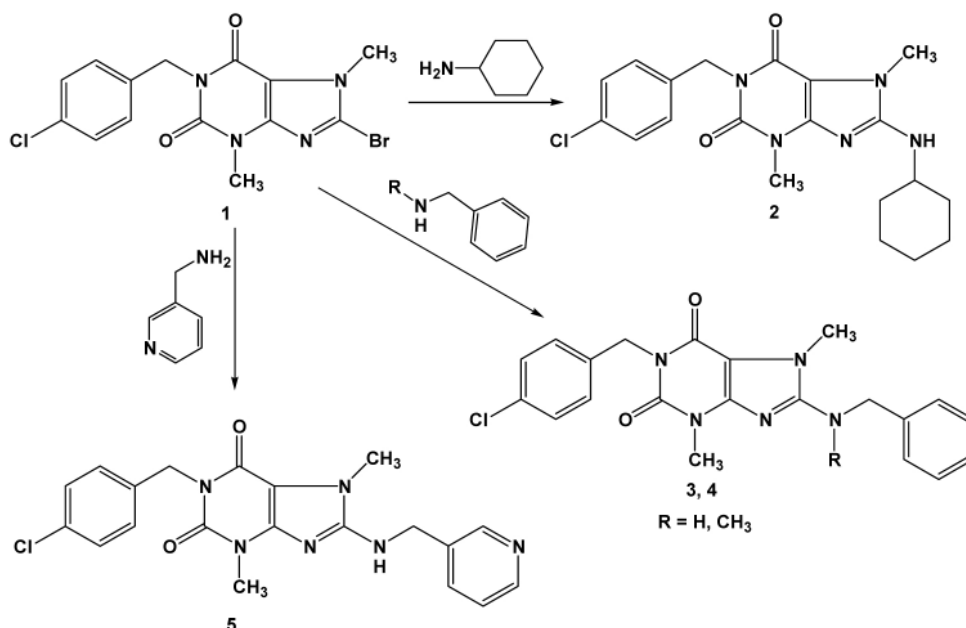
Взаємодією 8-бромо-1-п-хлоробензилтеобромінів (1) [7] з первинними та вторинними амінами в середовищі 2-етоксіетанолу отримано ряд неописаних раніше 8-N-циклогексил(2)-, 8-N-бензил(3, 4)-, та 8-N-(піридин-3-іл)метил(5)-аміно-1-п-хлоробензилтеобромінів (схема 1).

Для доведення будови синтезованих сполук використано метод ПМР-спектроскопії. Як видно з наведених у таблиці 1 даних, сигнали ароматичних протонів бензильного залишку реєструють у вигляді мультиплетів в інтервалі 7,36–7,23 м.ч. відповідної інтенсивності. Сигнали ароматичних протонів піридинового залишку фіксують у слабшому полі у вигляді синглету при 8,56 м.ч. (αCH), дублетів при 8,42 м.ч. (αCH) та 7,73 м.ч. (γCH). Сигнал піридинового протону в β-положенні реєструється разом з ароматичними протонами 1-п-хлоробензильного залишку, про що свідчить їх інтенсивність (5H). Метиленові протони бензильного залишку в положенні 1 резонують у досить вузькому інтервалі (5,0–4,96 м.ч.). Протони метильних груп, зв'язаних з атомами нітрогену в положеннях 3 та 7 ксантинової молекули, фіксують у вигляді інтенсивних синглетів при 3,36–3,40 м.ч. та 3,56–3,77 м.ч. відповідно. Наявність залишку аміну у положенні 8 підтверджують сигнали відповідної форми та інтенсивності (табл. 1). Протони NH-групи в положенні 8 реєструють у вигляді дублету при 6,62 м.ч. (2)

Таблиця 3

## Біологічна дія 8-амінопохідних 1-п-хлоробензилтеоброміну (2-5)

Сполука	ЛД <sub>50</sub> (M±m), мг/кг	Діуретична активність за 4 год, % до контролю	Анальгетична активність, %	Протизапальна активність, %	АОА, %		
					C = 10 <sup>-3</sup> моль/л	C = 10 <sup>-5</sup> моль/л	C = 10 <sup>-7</sup> моль/л
2	486,1±19,2	128,1	5,6	25,0	77,5	2,5	7,5
3	256,3±13,2	110,8	9,4	12,7	68,0	-46,0	-52,0
4	310,0±13,1	117,8	11,3	17,2	-74,0	-34,0	-52,0
5	420,1±18,3	108,1	–	19,7	61,3	-13,1	-19,4
Контроль	–	100	–	–	–	–	–
Гідрохлортиазид	–	169,8	–	–	–	–	–
Диклофенак натрію	–	–	45,8	42,7	–	–	–
Анальгін	–	–	44,3	42,0	–	–	–
Аскорбінова кислота	–	–	–	–	60,87	39,13	76,09
Тіотріазолін	–	–	–	–	33,90	22,60	7,63



Таблиця 4

Значення молекулярних дескрипторів синтезованих сполук (2–5)

Сполука	М, Да	Кількість			LogP	TPSA, Å <sup>2</sup>	Молекулярна рефракція, м <sup>3</sup> /моль
		Атомів	Донорів Н <sup>+</sup>	Акцепторів Н <sup>+</sup>			
2	402	52	1	3	4,04±0,52	73,85	109,431
3	410	49	1	3	3,78±0,32	73,85	113,031
4	424	52	0	3	4,08±0,41	65,06	117,265
5	411	48	1	4	2,63±0,33	86,74	110,874

та триплетів при 7,52 м.ч. (3) та 7,60 м.ч. (5). Викладене однозначно підтверджує будову синтезованих сполук.

Попередньо здійснено розрахунки індексу Ліпінські, що для всіх синтезованих сполук дорівнює 0 (табл. 4), а отже отримані речовини відповідають вимогам «правил п'яти» [14]. Як видно з наведених даних, значення полярної поверхні та молекулярної рефракції відповідають критеріям Гхоша [15], що показує доцільність подальших досліджень.

Надалі використано програму PASS для SAR предикції [16]. Встановлено, що синтезовані речовини є перспективними діуретичними засобами (вірогідність – 60,7–75,0%).

Дослідження *in vitro* показали, що всі сполуки (за винятком 8-N-бензилметиламінопохідного (4)) за показником АОА в концентрації 10<sup>-3</sup> моль/л перевищують еталони порівняння. Зі зменшенням концентрації для сполук 3–5 відзначено прооксидантну активність.

Гостра токсичність синтезованих сполук – у межах 256,3–486,1 мг/кг, тобто вони належать до помірно та малотоксичних речовин.

Аналізуючи показники діуретичної, протизапальної та анальгетичної активності (табл. 3), можна констату-

вати, що синтезовані сполуки поступаються еталонам порівняння. Слід зазначити, що остаточні висновки про перспективність чи безперспективність пошуку сполук з протизапальною, діуретичною, знеболюючою дією серед 8-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів можна буде зробити після додаткових досліджень. Тим більше, раніше [8] встановлено, що введення фурил-2-метиламінового замісника в положення 8 призводить до значного посилення діурезу, підвищення показників АОА та протизапальної дії.

Робота в даному напрямку триває.

#### Висновки

Розроблено доступні лабораторні методи синтезу 8-*R*-аміно-1-*n*-хлоробензилтеобромінів, будову яких доведено даними елементного аналізу, ПМР-спектроскопії.

Для прогнозування біологічних властивостей отриманих речовин використано методи молекулярного моделювання.

Вивчено гостру токсичність, анальгетичну, діуретичну, протизапальну та антиоксидантну дію синтезованих сполук, встановлено пріоритети для подальшого пошуку біологічно активних сполук.

### Список літератури

1. Пат. 18109А Україна, МПК А61К 31/52, С07D 473/00. 2-(2-Гідрокси-5-бромбензиліден)-6-метил-2,3-дигідротіазоло-(3,2-А)пуридин-3,5, що має діуретичну та нейролептичну активність / М.І. Романенко, Б.О. Прийменко, Н.І. Пономаренко [та ін.] – № 94032884; заявл. 22.03.94; опубл. 01.07.97, Бюл. №5.
2. Pat. 7253176 B1 USA, IntCl. A61K 31/519. Immunosuppressive effect of 8-substituted xanthine derivative / M.J.A. Waeg, P.A.M.M. Herdewijn, W.E. Pfeiderer. – № 09/564200; заявл. 04.05.2000; опубл. 07.08.07. – 15 p.
3. Pat. 2008/0081816 A1 USA, A 61 K 31/522, C 07 D 473/04. Anti-inflammation activity of newly synthesized xanthine derivatives KMUP-1 and KMUP-3 / Ing-JunChen, Bin-NanWu, Jwu-LaiYeh. – appl. №11/538236, date of patent Apr. 3, 2008.
4. Pat. 2009/0209561 A1 USA, A 61 K 31/522, C 07 D 473/04. Xanthine derivative with HM74A receptor activity / R.J.D Hatley, I.L. Pinto. – appl. №11/577763, date of patent Aug. 20, 2009.
5. Pat. 2009/0131432 A1 USA, A 61 K 31/522, C 07 D 473/04. Xanthine derivatives, their preparation and their use in pharmaceutical compositions / F. Himmelsbach, E. Langkopf, M. Eckhardt et al. – appl. №12/355011, date of patent May 21, 2009.
6. Синтез та біологічні властивості 8-амінозаміщених 7-β-гідрокси-γ-(3' метилфенокси)пропіл-3-метилксантину / О.С. Шкода, М.І. Романенко, І.Б. Самура [та ін.] // Вісник фармації. – 2007. – №1 (49). – С. 3–8.
7. Пат. № 21412 Україна, МПК С07D 473/00. 1-п-Хлорбензил-8-(піридиніл-3')метиліденгідразинотеобромін, який виявляє антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Р.В. Жмурін, І.Ф. Беленічев, Г.М. Милосердова – № u200610204 ; заявл. 25.09.06 ; опубл. 15.03.07, Бюл. №3 .
8. Пат. № 38873 Україна, МПК С07D 473/00. 8-N-(фурил-2) метиламіно-1-п-хлорбензилтеобромін, який виявляє діуретичну, протизапальну і антиоксидантну дію / Д.Г. Іванченко, М.І. Романенко, Б.А. Самура, Н.В. Крісанова – № u200809552; заявл. 21.07.08; опубл. 26.01.09, Бюл. №2 .
9. Гацура В.В. Методы первинного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 144 с.
10. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим.-фармац. журн. – 1977. – Т. 11, №5. – С. 3–11.
11. Тринус Ф.П. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих средств: Метод. реком. / Ф.П. Тринус, В.М. Клебанов, Н.А. Мохарт. – К.: Здоров'я, 1974. – 27 с.
12. Pat. 5726063 USA, G01N 33/52. Method of colorimetric analysis of malonic dialdehydes and 4-hydroxy-2-enaldehydes as indexes of lipid peroxidation, kits for use in said method and their preparation / D. Gerard-Monnier, I. Erdelmeir, J. Chaudiere, J. Yadan. – appl. №702197, date of patent Mar. 10, 1998.
13. Беленічев І.Ф. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідах in vitro: метод. реком. / І.Ф. Беленічев, Ю.І. Губський, В.В. Дунаєв, С.І. Коваленко. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
14. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / Ch.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney // Adv. Drug Del. Rev. – 2001. – №46. – P. 3–26.
15. Ghose A.K. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases / A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. Wendoloski // J. Comb. Chem. – 1999. – №1. – P. 55–68.
16. Geronikaki A. Computer-aided prediction for medicinal chemistry via the Internet / A. Geronikaki, D. Druzhilovsky, A. Zakharov, V. Poroikov // SAR QSAR Environ. Res. – 2008. – №19 (1–2). – P. 27–38

### Відомості про авторів:

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

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

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

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

Корнієнко В.І., зав. каф. фармакології та токсикології Харківської зооветеринарної академії.

### Адреса для листування:

Іванченко Дмитро Григорович. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Тел.: (0612) 34 24 42.

E-mail: ivanchenkodima@yandex.ru

Надійшла в редакцію 15.03.2012 р.



Л.І. Кучеренко<sup>1</sup>, Н.В. Парнюк<sup>1</sup>, Л.І Шаповалова<sup>2</sup>, О.О. Портна<sup>1</sup>, З.Б. Моряк<sup>1</sup>

## Розробка оптимальної методики визначення кількісного вмісту тіотріазоліну

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

НВО «Фарматрон»,

<sup>2</sup>ЦЗЛ ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України

**Ключові слова:** тіотріазолін, неводне титрування, оцтова кислота безводна, мурашина кислота безводна, хлорна кислота.

**Ключевые слова:** тиотриазолин, неводное титрование, уксусная кислота безводная, муравьиная кислота безводная, хлорная кислота.

**Key words:** Thiotriazolin, nonaqueous titration, acetic acid anhydrous, formic acid anhydrous, perchloric acid.

Розроблено удосконалену методику кількісного визначення субстанції тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням у якості розчинника суміші мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом. Розроблену методику запропоновано заводу-виробнику для внесення до нормативних документів на субстанцію тіотріазоліну.

Разработана усовершенствованная методика количественного определения субстанции тиотриазолина методом неводного титрования с использованием в качестве растворителя смеси муравьиной кислоты безводной Р и уксусной кислоты безводной Р с фиксацией точки эквивалентности потенциометрическим методом. Разработанная методика предложена заводу-изготовителю для внесения в нормативные документы на субстанцию тиотриазолина.

Improved technique of Thiotriazolin substance quantitative determination by nonaqueous titration method with the use of mixture of acetic acid anhydrous Р and formic acid anhydrous Р as solvent with the fixation of equivalence point by electrometric method was worked out. Developed method is proposed to builder for entry into the Thiotriazolin substance regulations.

Тіотріазолін – це вітчизняний лікарський препарат, створений у Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора І.А. Мазура. Від моменту синтезу до клінічного впровадження його як лікарського препарату минуло вже понад 20 років [1,5,6,12,13].

Його фармакологічний ефект зумовлений протиішемічними, антиоксидантними, мембраностабілізуючими та імуномодельючими властивостями. Препарат запобігає загибелі гепатоцитів, сприяє процесам їх регенерації. Також тіотріазолін збільшує синтез і виділення жовчі, нормалізує її хімічний склад, посилює компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, знижує пригнічення процесів окислення в циклі Кребса зі збереженням внутрішньоклітинного фонду АТФ [7,9].

Препарат активує антиоксидантну систему і гальмує процеси окислення ліпідів в ішемізованих ділянках міокарда, знижує чутливість міокарда до катехоламінів [8]. Тіотріазолін здатний також покращувати реологічні властивості крові шляхом активації фібринолітичної системи. Тіотріазолін є ефективним засобом лікування хронічних захворювань печінки різної етіології, а також дисфункцій жовчного міхура, може сприяти швидкому купіруванню основних клінічних проявів даної патології.

Тіотріазолін поступово посів гідне місце серед фармакологічних препаратів і нині широко застосовується в Україні та країнах СНД. З кожним роком цікавість лікарів до нього зростає [1,11]. На сьогодні тіотріазолін застосовують у медичній практиці у вигляді різних лікарських форм: таблеток, ампульних ін'єкційних розчинів,

очних крапель, мазей, вагінальних супозиторіїв, а також у вигляді комбінованих лікарських засобів [4].

У зв'язку з поширенням сфери застосування препарату, виникла гостра необхідність у розробці нових оптимальних методів аналізу субстанції тіотріазоліну, які б мали значні переваги у порівнянні з методами, що внесені до методик контролю якості (МКЯ).

### Мета роботи

Розробка досконалішої методики кількісного визначення субстанції тіотріазоліну.

### Матеріали і методи дослідження

Кількісне визначення субстанцій, похідних триазолів, що використовуються для виготовлення лікарських засобів, згідно до вимог Державної фармакопеї та міжнародних стандартів, здійснюється методом неводного титрування [2,3]. Тому вивчено вже існуючу методику кількісного визначення тіотріазоліну, яку внесено до МКЯ, на її основі розроблено удосконалену методику неводного титрування.

### Результати та їх обговорення

Досліджено 6 серій тіотріазоліну, отриманих з заводу Державного підприємства «Хімічних реактивів корпорації Монокристал».

**Методика.** Близько 0,200 г субстанції поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 25 мл оцтової кислоти безводної Р та нагрівають на гарячій (80–90°C) водяній бані до повного розчинення. Отриманий розчин охолоджують і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти до зеленого забарвлення (індикатор – 0,02 мл розчину кристалічного фіолетового Р).



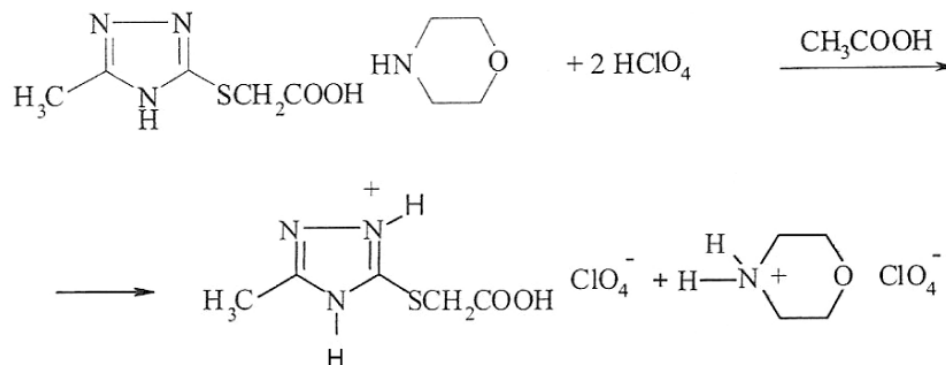


Рис. 1. Ацидиметрія в неводному середовищі, пряме титрування.

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 13,00 мг  $C_9H_{16}N_4O_3S$ .

Вміст  $C_9H_{16}N_4O_3S$  (морфолінію 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетату) в субстанції має бути від 98,5% до 101,0% у перерахунку на суху речовину. Розрахунки проводили згідно до формули:

$$C\% = \frac{(V_1 - V_k) \cdot T \cdot K_1 \cdot 100}{m}$$

де  $V_1$  – кількість титрованого розчину, використаного на титрування наважки (мл);

$V_2$  – кількість титрованого розчину контрольного до-сліду (мл);

$K_1$  – коефіцієнт поправки молярності титрованого розчину;

$T$  – титр речовини, що визначається;

$m$  – наважка субстанції, використаної для аналізу (г).

Результати, отримані при кількісному визначенні тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням розчинника (оцтової кислоти безводної Р), та їх статистична обробка наведені в таблиці 1.

З отриманих результатів видно, що зазначений метод досить точний. Однак необхідно зауважити, що на його застосування необхідно багато часу. Субстанцію

тіотріазоліну спочатку необхідно розчинити у оцтовій кислоті безводній Р. Для цього процес розчинення проводять на гарячій (80–90°C) водяній бані, а потім отриманий розчин необхідно охолодити до кімнатної температури, що значно ускладнює процес аналізу. У зв'язку з цим, розроблено аналіз без названих стадій. Відомо, що субстанції, до складу яких входять похідні тріазолів, розчиняються в мурашиній кислоті безводній Р. Вивчено можливість розчинення в ній тіотріазоліну з подальшим додаванням оцтової кислоти безводної Р та проведенні в отриманому розчині кількісного визначення. Для цього розраховано теоретичну наважку тіотріазоліну, на титрування якої має піти 10 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти. Ця наважка становила 0,1 г. Наважки розчиняли з додаванням мурашиної кислоти безводної Р від 1 до 10 мл. Кислоти оцтової безводної Р використано від 20 до 40 мл. У результаті лабораторного дослідження встановлено оптимальний склад розчинника, що складається з 2 мл кислоти мурашиної безводної Р та 40 мл кислоти оцтової безводної Р. Розроблено методику кількісного визначення тіотріазоліну з використанням зазначених розчинників.

Результати кількісного визначення тіотріазоліну наведено у таблиці 2.

Таблиця 1

**Дослідження тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням розчинника (оцтової кислоти безводної Р)**

Сполука	Серія	Наважка, г	V, мл	Vк, мл	Кп	С, %	Статистична обробка
Тіотріазолін	050510	0,1962	15,6	0,5	1,0058	100,63	$X = 100,64$ $S^2 = 0,0205$ $S = 0,143178$ $\Delta X = 0,16456$
Тіотріазолін	450910	0,1953	15,5	0,5	1,0058	100,43	
Тіотріазолін	621010	0,1975	15,7	0,5	1,0058	100,63	
Тіотріазолін	961110	0,1984	15,8	0,5	1,0058	100,83	
Тіотріазолін	080911	0,1961	15,6	0,5	1,0058	100,68	

Таблиця 2

**Дослідження тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням розчинників: мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р**

Сполука	Серія	Наважка, г	V, мл	Vк, мл	Кп	С%	Статистична обробка
Тіотріазолін	050510	0,0979	7,9	0,4	1,0058	100,17	$X = 100,31$ $S^2 = 0,0268$ $S = 0,163707$ $\Delta X = 0,188155$
Тіотріазолін	450910	0,0989	8,0	0,4	1,0058	100,48	
Тіотріазолін	621010	0,0991	8,0	0,4	1,0058	100,28	
Тіотріазолін	961110	0,0966	7,8	0,4	1,0058	100,14	
Тіотріазолін	080911	0,0976	7,9	0,4	1,0058	100,48	

**Дослідження тіотриазоліну методом неводного титрування з використанням розчинників – мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р – з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом**

Сполука	Серія	Наважка, г	V, мл	Vк, мл	Кп	С%	Статистична обробка
Тіотриазолін	050510	0,0976	7,9	0,4	1,0058	100,48	X= 100,24 S <sup>2</sup> = 0,02435 S=0,156045 ΔX=0,179348
Тіотриазолін	450910	0,0983	7,7	0,4	1,0058	100,16	
Тіотриазолін	621010	0,0967	7,8	0,4	1,0058	100,06	
Тіотриазолін	961110	0,0978	7,9	0,4	1,0058	100,27	
Тіотриазолін	080911	0,0965	7,8	0,4	1,0058	100,23	

Методика. 0,100 г субстанції розчиняють у 2,0 мл мурашиної кислоти безводної Р, додають 40 мл оцтової кислоти безводної Р і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти (індикатор – 0,02 мл розчину кристалічного фіолетового Р).

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 13,00 мг  $C_9H_{16}N_4O_3S$ .

Вміст  $C_9H_{16}N_4O_3S$  (морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в субстанції має бути від 98,5% до 101,0% у перерахунку на суху речовину.

Згідно до вимог Державної фармакопеї та міжнародних стандартів на субстанції, рекомендується фіксація точки еквівалентності не візуально, а за допомогою інструментальних методів. Тому запропоновано потенціометричний метод, використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів.

Методика. 0,100 г субстанції розчиняють у 2,0 мл мурашиної кислоти безводної Р, додають 40 мл оцтової кислоти безводної Р і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти потенціометрично (ДФУ 1.0, 2.2.20), використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів.

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 13,00 мг  $C_9H_{16}N_4O_3S$ .

Вміст  $C_9H_{16}N_4O_3S$  (морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в субстанції має бути від 98,5% до 101,0% у перерахунку на суху речовину.

Після кількісного визначення субстанції тіотриазоліну за зазначеними методиками встановлено, що титрування з використанням у якості суміші розчинників мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р значно скорочує час проведення аналізу за рахунок прискорення розчинення речовини.

Титрування з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом є найбільш зручним, досконалим і відповідає всім вимогам Державної фармакопеї та міжнародним стандартам [2,3].

#### Висновки

Розроблено методику кількісного визначення тіотриазоліну методом неводного титрування з використанням суміші розчинників – мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р – з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом, що значно зменшує час аналізу у порівнянні з існуючою.

Розроблену методику запропоновано заводу-виробнику для внесення в МКЯ на субстанцію тіотриазолін.

#### Список літератури

1. Волошин Н.А. Тиотриазолін, тиоацетам, тиодарон в практиці врача / Волошин Н.А., Визир В.А., Волошина И.Н. – Запоріжжя: ЗГМУ, 2008. – 224 с.
2. Державна Фармакопея України: Доповнення 1 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1 вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
3. Державна Фармакопея України: Перше видання / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1 вид. – Х.: РІРЕГ, 2001.
4. Демчук М.Б. Досвід створення комбінованих препаратів на основі Тиотриазоліну / Демчук М.Б., Тригубчак О.В., Васенда М.М., Кучеренко Л.І., Грошовий Т.А. – Х., 2010. – Т. 1. – С. 469.
5. Мазур І.А. Тиотриазолін / Мазур І.А., Волошин Н.А., Чекман І.С. – Запоріжжя, Львов: Наутилус, 2005. – 156 с.
6. Мазур І.А. Метаболитотропные препараты / Мазур І.А., Чекман І.С., Беленичев І.Ф. – Запоріжжя, 2007. – 309 с.
7. Мазур І.А. Тиотриазолін, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии / Мазур І.А., Волошин Н.А., Визир В.А., Беленичев І.Ф. – Запоріжжя: Печатный мир, 2011
8. Метаболические кардиопротекторы / Визир В.А., Волошин Н.А., Мазур І.А., Беленичев І.Ф. – Запоріжжя, 2006. – 34 с.
9. Cardoni A. Insight into cytoprotection with metabolic agents / Cardoni A., Pasini E. // Eur. Heart J. – 1999. – Vol. 1. – P. 40–48.
10. Ihor Belenichev Effect of the Spin Trapping Compound PBN and Thiotriazoline on the Outcome from Experimental Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats / Ihor Belenichev, Sergej Pavlov, Elena Sokolik, Ivan Mazur, Nina Buhtiyarova, Lyudmila Kucherenko // Molecular Pharmacology. – 2010. – Vol. 1, Issue 3. – С. 90–95.
11. Roman I. Zubatyuk Crystal. Molecular structure and tautomerism of (5-methyl -1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid / Roman I. Zubatyuk, Svetlana V. Shichkina, Ivan A. Mazur // Struct. Chem. – 2008. – Vol. 19. – P. 407–412.
12. Svetlana V. Shichkina Two polymorphs of morpholin-4-ium 2-(5-methyl-1H-1,2,4triazol-3ylsulfanyl) acetate / Svetlana V. Shichkina, Roman I. Zubatyuk, Ivan A. Mazur. // Crystal Struct. Communications – 2009. – Vol. C65. – P. o24–o26.

#### Відомості про авторів:

Кучеренко Л.І., д. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Парнюк Н.В., студентка 4 курсу фармацевтичного факультету ЗДМУ.

Шаповалова Л.І., начальник ЦЗЛ ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України.

Портна Олена Олексіївна, к. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Моряк З.Б., к. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

#### Адреса для листування:

Кучеренко Людмила Іванівна. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ. Тел.: (0612) 224 69 25.

Надійшла в редакцію 22.03.2012 р.



М.І. Лелюх, Д.Я. Гаврилюк, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик

## Синтез нових неконденсованих похідних 4-тіазолідинону з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом у молекулах та їх протипухлинна активність

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

**Ключові слова:** синтез, 4-тіазолідинони, 1,3,4-оксадіазоли, протипухлинна активність.

**Ключевые слова:** синтез, 4-тиазолидиноны, 1,3,4-оксадиазолы, противоопухолевая активность.

**Key words:** synthesis, 4-thiazolidinones, 1,3,4-oxadiazoles, antitumor activity.

Здійснено синтез 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамідів, використаних у якості алкілюючих реагентів у реакціях з 2,4-тіазолідиндіоном і калійними солями його 5-ариліденопохідних. Структуру синтезованих сполук підтверджено методом ПМР спектроскопії. Проведено скринінг протипухлинної активності отриманих сполук.

Синтезовані 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-ил)-ацетамиды, которые использованы в качестве алкилирующих реагентов в реакциях с 2,4-тиазолидиндионом и калийными солями его 5-арилденпроизводных. Структура синтезированных соединений подтверждена методом ПМР спектроскопии. Проведен скрининг противоопухолевой активности полученных веществ.

2-chloro-*N*-(5-aryl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-acetamides have been synthesized and utilized as alkylating agents in reactions with potassium salts of thiazolidine-2,4-dione and its 5-arylidene derivatives. Structure of synthesized compounds was confirmed by <sup>1</sup>H NMR spectra. An antitumor activity screening of synthesized compounds was carried out.

У результаті системних досліджень у галузі хімії та фармакології гетерилзаміщених похідних 1,3,4-оксадіазолу ідентифіковано сполуки з протизапальною [1,2], протимікробною [3], протипухлинною [4,5], протитуберкульозною [6] активностями. Водночас, поєднання в одній молекулі ядра оксадіазолу з 4-тіазолідиновим фрагментом, особливо враховуючи широкий фармакологічний потенціал останніх, є одним з перспективних напрямків пошуку нових біологічно активних сполук. Так, для неконденсованих похідних 1,3,4-оксадіазолу з тіазолідиновим або спорідненими, зокрема тіазольним, фрагментами характерними є протитуберкульозна [7,9], протизапальна [8], протимікробна [9,10] та противірусна [10] дії.

### Мета роботи

Синтез нових 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамідів і неконденсованих похідних 2,4-тіазолідиндіону з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом в 3 положенні базового гетероциклу як потенційних протипухлинних агентів.

### Матеріали і методи дослідження

Синтетичні дослідження здійснено з використанням реактивів компаній «Merck» (Дармштадт, Німеччина) та «Sigma-Aldrich» (Міссурі, США). Структуру і склад ключових синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом і спектроскопією ПМР. Протиракову активність синтезованих сполук вивчали методом високоефективного біологічного скринінгу згідно до міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США – DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (Бетезда, Меріленд, США) [11–14].

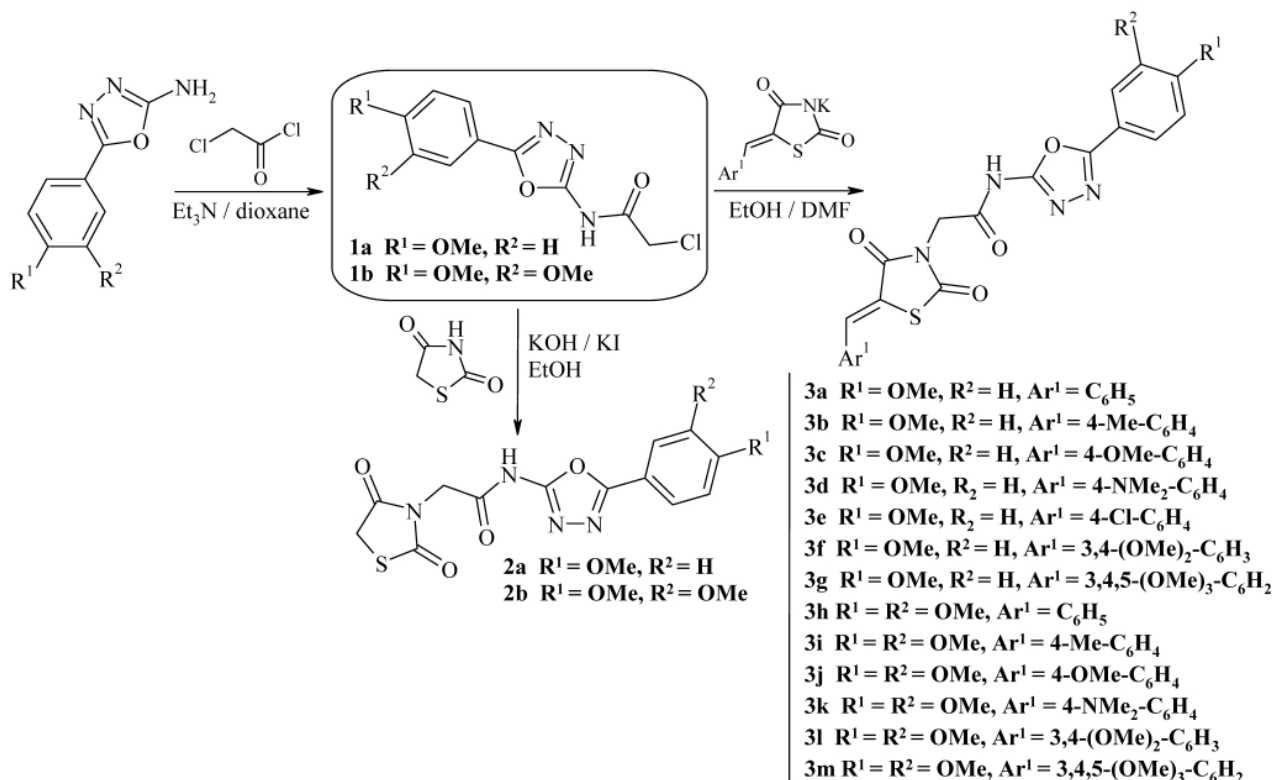
### Результати та їх обговорення

Вихідним реагентом для синтетичних досліджень об-

рано 2-аміно-5-арил-1,3,4-оксадіазоли [15], що в реакції ацилювання з хлорацетилхлоридом утворюють відповідні 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетаміди **1a-1b**. Синтезовані сполуки **1a-1b** використано в якості алкілюючих реагентів у реакціях з калійною сіллю 2,4-тіазолідиндіону, отриманою *in situ*, з утворенням відповідних 5-незаміщених 2,4-тіазолідиндіонів з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом у 3 положенні (сполуки **2a-2b**). Спрямований синтез 3-заміщених 5-арилідено-2,4-тіазолідиндіонів (**3a-3m**) обґрунтований встановленим фактом впливу будови замісника в 5 положенні тіазолідинового циклу на прояв протипухлинної активності [16,17]. Отже, при алкілюванні калійних солей 5-арилідено-2,4-тіазолідиндіонів отримано відповідні похідні **3a-3m**.

Структуру синтезованих сполук підтверджено методом спектроскопії ПМР. У спектрах ПМР протони метильної та метоксильної груп утворюють синглети при ~2,36–3,02 та ~3,82 м.ч. відповідно. Метиленова група в положенні 5 тіазолідинового циклу (**2a**) утворює синглет при 4,33 м.ч. Сигнал 2 протонів метиленової групи CH<sub>2</sub>CO проявляється у вигляді синглету при ~4,60–4,65 м.ч. Необхідно зазначити, що метиліденовий протон 5-ариліденопохідних (**3a-3m**) утворює синглет при 7,85–8,00 м.ч., що свідчить про *Z*-конфігурацію 5-ариліденового фрагмента. Сигнал протону амідної групи резонує широким синглетом у ділянці слабого магнітного поля (~12,26–12,40 м.ч.).

Для синтезованих сполук **2a**, **3b-3f**, **3h-3l** вивчали протипухлинну активність *in vitro* (табл. 1) на 60 ліній ракових клітин, що охоплюють майже весь спектр ракових захворювань людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланоми, раку простати та ЦНС), при дії речовини в



концентрації 10<sup>-5</sup> моль/л. Кількісним показником ефекту був відсоток росту клітин ліній (GP, %) раку у порівнянні з контролем. За результатами прескринінгу тестовані сполуки виявили неоднозначну протипухлинну активність з середніми значеннями GP у межах 67,20–110,44%. Так, сполуки **3d**, **3f**, **3j** і **3k** на фоні загальної незначної активності в концентрації 10<sup>-5</sup> М характеризуються селективністю дії на окремі лінії раку нирок CAKI-1 (**3d**, GP = 15,46%; **3k**, GP = 37,30%; **3j**, GP = 44,21%), UO-31 (**3f**, GP = 66,67%; **3k**, GP = 65,40%), раку кишечника HCT-15 (**3j**, GP = 58,15%; **3k**, GP = 62,73%), раку яєчників NCI/ADR-RES (**3d**, GP = 24,53%), раку ЦНС SF-295 (**3d**, GP = 13,78%) та недрібноклітинного раку легень NCI-H460 (**3d**, GP = 26,13%). Слід відзначити, що активність синтезованих сполук залежить від будови замісника в 5 положенні 4-тіазолідинового фрагменту, що узгоджується з результатами попередніх досліджень [16,17]. Введення більшості ариліденових замісників не сприяло значному підсиленню активності на фоні сполуки **2a**, проте наявність 4-диметиламінофенілметиліденового фрагмента призвело до появи цитостатичного ефекту в концентрації 10<sup>-5</sup> М на 14 з 58 пухлинних ліній. Порівнюючи результати прескринінгу сполук **3d** та **3k**, варто зазначити, що заміна 4-метоксифенільного залишку на 3,4-диметоксифенільний у положенні 5 оксадіазольного циклу зумовлює зниження цитостатичного ефекту (табл. 1).

За результатами прескринінгу сполуку **3d** обрано для ґрунтового *in vitro* скринінгу, що полягав у вивченні

активності речовини у 5 концентраціях при 10-кратному розведенні. При аналізі результатів ґрунтового *in vitro* скринінгу встановлено, що тестована сполука на 55 з 59 досліджуваних ліній пригнічує на 50% ріст пухлинних клітин у концентрації менше 10<sup>-4</sup> М (GI<sub>50</sub> < 100 μM) та створює повне інгібування росту пухлинних клітин у концентрації менше 10<sup>-4</sup> М (TGI < 100 μM) на 8 з 59 досліджуваних ліній.

Для визначення селективності дії сполуки **3d** на окремі види захворювань розраховано індекс селективності (SI) як відношення середнього значення показника активності (MID GI<sub>50</sub> = 10,27 μM) для всіх ліній ракових клітин до середнього значення відповідного показника для окремого виду захворювання. Величину індексу селективності між 3 і 6 трактують як помірну селективність, значення SI > 6 свідчить про високу селективність протипухлинного ефекту.

Параметри активності сполуки **3d** наведено в таблиці 2.

Варто відзначити, що за результатами ґрунтового *in vitro* скринінгу встановлено високу протимітотичну активність сполуки **3d** на всі види ракових захворювань з середніми значеннями ефективної концентрації (GI<sub>50</sub>) 3,71–18,86 μM без вираженої селективності впливу на окремі види онкологічних захворювань (SI < 3,0).

*Експериментальна частина.* Спектри ПМР вимірювали на приладі «Varian VXR-400», розчинник DMSO-D<sub>6</sub>, стандарт – тетраметилсилан. Дані елементного аналізу на вміст азоту і сірки відповідають вирахуваням (±0,3%).

Таблиця 1

## Протипухлинна активність синтезованих сполук (результати прескринінгу)

Сполука	Середня мітотична активність 60 ліній, %	Діапазон мітотичної активності 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії клітин	Мітотична активність, GP %
2a	103,56	74,37 ÷ 116,38	CAKI-1 (рак нирок) UO-31 (рак нирок) A498 (рак нирок)	98,70 84,78 74,37
3b	104,13	85,97 ÷ 124,46	HL-60(TB) (лейкемія) A498 (рак нирок) UO-31 (рак нирок)	85,97 86,50 86,30
3c	107,06	84,34 ÷ 123,26	UO-31 (рак нирок)	84,34
3d	67,20	13,78 ÷ 110,44	SF-295 (рак ЦНС) CAKI-1 (рак нирок) UO-31 (рак нирок) NCI/ADR-RES (рак яєчників) HCT-116 (рак кишечника) HCT-15 (рак кишечника) NCI-H460 (рак легень) SR (лейкемія) MOLT-4 (лейкемія) K-562 (лейкемія) CCRF-CEM (лейкемія)	13,78 15,46 30,37 24,53 41,35 39,66 26,13 49,63 45,71 32,51 39,47
3e	101,86	76,85 ÷ 123,75	UO-31 (рак нирок) MOLT-4 (лейкемія) K-562 (лейкемія) HL-60(TB) (лейкемія) SR (лейкемія)	79,68 76,85 79,84 80,90 81,66
3f	101,83	66,67 ÷ 129,14	UO-31 (рак нирок) CAKI-1 (рак нирок)	66,67 68,49
3h	108,01	88,13 ÷ 127,68	T-47D (рак молочної залози) CAKI-1 (рак нирок) UO-31 (рак нирок) SF-539 (рак ЦНС)	91,50 93,07 88,13 93,08
3i	110,44	67,23 ÷ 132,83	CAKI-1 (рак нирок) HCT-15 (рак кишечника)	67,23 80,52
3j	101,29	44,21 ÷ 128,60	UO-31 (рак нирок) CAKI-1 (рак нирок) NCI/ADR-RES (рак яєчників) HCT-15 (рак кишечника)	70,35 44,21 74,18 58,15
3k	98,58	37,30 ÷ 119,55	UO-31 (рак нирок) CAKI-1 (рак нирок) HCT-15 (рак кишечника)	65,40 37,30 62,73
3l	104,87	85,35 ÷ 122,49	UO-31 (рак нирок) CAKI-1 (рак нирок) SNB-75 (рак ЦНС) HCT-15 (рак кишечника)	85,35 87,93 86,60 86,96

Загальна методика синтезу 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамідів (**1a-1b**). До суспензії 0,025 моль відповідного 2-аміно-5-арил-1,3,4-оксадіазолу в 40 мл безводного діоксану додають еквімолярну кількість триетиламіну та повільно при постійному перемішуванні прикачують хлорацетилхлорид (0,025 моль). Вміст колби нагрівають під зворотним холодильником до повного розчинення, після чого кип'яють ще 15–20 хв. Реакційну суміш повністю охолоджують і виливають на воду. Продукт реакції відфільтровують, висушують і перекристалізують з оцтової кислоти.

2-Хлоро-*N*-[5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**1a**). Вихід 90%. Т.топл. 180–182°C.

2-Хлоро-*N*-[5-(3,4-диметоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**1b**). Вихід 87%. Т.топл. 191–193°C.

Загальна методика синтезу 2-(2,4-діоксотіазолідин-3-іл)-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамідів (**2a-2b**). В круглодонну колбу поміщують 0,01 моль 2,4-тіазолідиндіону, розчиняють його в 10 мл етанолу при нагріванні і додають попередньо отриманий розчин 0,01 моль КОН в 5 мл етанолу. До утвореної калійної солі 2,4-тіазолідиндіону додають 0,011 моль відповідного 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетаміду, декілька кристалів калію йодиду і кип'яють під зворотним холодильником протягом 3–4 год. Після повного охолодження реакційної суміші осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, висушують і перекристалізують з оцтової кислоти.

2-(2,4-Діоксотіазолідин-3-іл)-*N*-(5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамід (**2a**). Вихід 67%. Т.топл.

Таблиця 2

Протипухлинна активність сполуки 3д  
(результати ґрунтового *in vitro* скринінгу, GI<sub>50</sub> ≤ 18 μM)

Вид раку MID GI <sub>50</sub> / SI	Лінії клітин раку	GI <sub>50</sub> , μM	Вид раку MID GI <sub>50</sub> / SI	Лінії клітин раку	GI <sub>50</sub> , μM
Лейкемія (Leucemia) 3,71 / 2,77	CCRF-CEM	2,75	Меланома (Melanoma) 15,96 / 0,64	LOX IMVI	3,27
	HL-60(TB)	3,40		M14	2,02
	K-562	3,13		MDA-MB-435	5,79
	MOLT-4	3,86		SK-MEL-2	4,92
	RPMI-8226	5,42		SK-MEL-28	3,08
Недрібно-клітинний рак легень (Non-Small Cell Lung Cancer) 6,02 / 1,71	A549/ATCC	4,00		SK-MEL-5	5,48
	EKVX	3,92		UACC-62	3,15
	HOP-62	5,77		IGROV1	6,73
	HOP-92	10,20		OVCAR-3	6,08
	NCI-H226	9,93		OVCAR-4	5,95
	NCI-H23	9,38	OVCAR-8	4,13	
	NCI-H322M	4,12	NCI/ADR-RES	1,94	
	NCI-H460	3,55	SK-OV-3	1,80	
Рак кишечника (Colon cancer) 18,86 / 0,54	NCI-H522	3,29	Рак нирок (Renal Cancer) 4,73 / 2,17	786-0	4,69
	HCC-2998	8,63		A498	5,41
	HCT-116	4,36		ACHN	4,60
	HCT-15	3,31		CAKI-1	2,27
	HT29	6,05		RXF 393	7,75
	KM12	4,85		SN12C	5,35
	SW-620	4,82		TK-10	4,32
Рак ЦНС (CNS Cancer) 5,99 / 1,71	SF-268	4,14		UO-31	3,43
	SF-295	3,13		MCF7	5,27
	SF-539	6,25		MDA-MB-231/ATCC	5,27
	SNB-19	5,70	HS 578T	16,10	
	SNB-75	13,2	BT-549	5,01	
	U251	3,54	T-47D	8,80	
			MDA-MB-468	7,76	
		Рак простати (Prostate Cancer) 7,37 / 1,39	PC-3	5,71	
			DU-145	9,02	

221–223°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3,82с (3H, OCH<sub>3</sub>), 4,33с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 4,46с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 7,12д (2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,83д (2H, J = 8,5 Гц, аром.), 12,26шс (1H, NH).

2-(2,4-Діоксотіазолідин-3-іл)-N-(5-(3,4-диметоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамід (2b). Вихід 71%. Т.топл. 195–197°C.

Загальна методика синтезу 2-(5-ариліден-2,4-діоксотіазолідин-3-іл)-N-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетамідів (3a-3t). В круглодонну колбу місткістю 100 мл поміщають еквівалентні кількості (по 0,0025 моль) калійної солі 5-ариліден-2,4-тіазолідиндіону та відповідного 2-хлоро-N-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)-ацетаміду, додають декілька кристалів калію йодиду, 5 мл ДМФА безводного та 5 мл етанолу і кип'ятять під зворотним холодильником протягом 3–4 год. Після повного охолодження реакційну суміш виливають на воду, продукт реакції відфільтровують, висушують і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

2-[5-Бензиліден-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (3a). Вихід 68%. Т.топл. 242–244°C.

2-[5-(4-Метилбензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (3b). Вихід 72%. Т.топл. 247–249°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 2,36с (3H, CH<sub>3</sub>), 3,82с (3H, OCH<sub>3</sub>), 4,64с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 7,12д

(2H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,37д (2H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,55д (2H, J = 7,3 Гц, аром.), 7,84д (2H, J = 7,5 Гц, аром.), 7,96с (1H, CH), 12,40шс (1H, NH).

2-[5-(4-Метоксибензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (3c). Вихід 78%. Т.топл. 233–235°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3,82с (6H, 2\*OCH<sub>3</sub>), 4,64с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 7,12д (4H, аром.), 7,63д (2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,84д (2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,95с (1H, CH), 12,40шс (1H, NH).

2-[5-(4-Диметиламінобензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (3d). Вихід 78%. Т.топл. 253–255°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3,02с (6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3,82с (3H, OCH<sub>3</sub>), 4,60с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 6,82д (2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,12д (2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,48д (2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,84-7,85м (3H, CH, аром.), NH – дейтерообмін.

2-[5-(4-Хлорбензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(4-метоксибеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (3e). Вихід 76%. Т.топл. 268–270°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3,82с (3H, OCH<sub>3</sub>), 4,65с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 7,12д (2H, J = 8,6 Гц, аром.), 7,62д (2H, J = 8,5 Гц, аром.), 7,68д (2H, J = 8,4 Гц, аром.), 7,84д (2H, J = 8,6 Гц, аром.), 8,00с (1H, CH), 12,41шс (1H, NH).

2-[5-(3,4-Диметоксибензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-

3-іл]-N-[5-(4-метоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3f**). Вихід 74%. Т.топл. 205–207°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 3,82с (9H, 3\*OCH<sub>3</sub>), 4,64с (2H, CH<sub>2</sub>CO), 7,10-7,15м (3H, аром.), 7,24с (2H, аром.), 7,83д (2H, J=7,8 Гц, аром.), 7,93с (1H, CH), 12,38шс (1H, NH).

2-[5-(3,4,5-Триметоксибензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(4-метоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3g**). Вихід 71%. Т.топл. 251–253°C.

2-[5-Бензиліден-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3h**). Вихід 73%. Т.топл. 247–249°C.

2-[5-(4-Метилбензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3i**). Вихід 72%. Т.топл. 240–242°C.

2-[5-(4-Метоксибензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3j**). Вихід 74%. Т.топл. 238–240°C.

2-[5-(4-Диметиламінобензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3k**). Вихід 74%. Т.топл. 237–239°C.

2-[5-(3,4-Диметоксибензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3l**). Вихід 78%. Т.топл. 243–245°C.

2-[5-(3,4,5-Триметоксибензиліден)-2,4-діоксотіазолідин-3-іл]-N-[5-(3,4-диметоксифеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл]-ацетамід (**3m**). Вихід 78%. Т.топл. 216–218°C.

#### Висновки

У результаті синтетичних досліджень отримано неконденсовані 5-незаміщені 2,4-тіазолідиндіони з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом у 3 положенні та ряд їх 5-ариліденпохідних, що є потенційними протираковими агентами.

Результати прескринінгу протипухлинної активності дозволили ідентифікувати «сполуку-хіт», що характеризується високим протимітотичним ефектом без вираженої селективності дії на окремі види ракових захворювань.

#### Список літератури

- Synthesis of substituted acridinyl pyrazoline derivatives and their evaluation for anti-inflammatory activity / T. Chandra, N. Garg, S. Lata [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 45. – P. 1772–1776.
- Synthesis and anti-inflammatory evaluation of some condensed [4-(3,4-dimethylphenyl)-1(2H)-oxo-phthalazin-2-yl]acetic acid hydrazide / M. S. M. Abd alla, M. I. Hegab, N. A. Abo Taleb [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 45. – P. 1267–1277.
- Synthesis of some new 1,2,4-triazoles starting from isonicotinic acid hydrazide and evaluation of their antimicrobial activities / H. Bayrak, A. Demirbas, N. Demirbas [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2009. – Vol. 44. – P. 4362–4366.
- An efficient synthesis and biological study of novel indolyl-1,3,4-oxadiazoles as potent anticancer agents / D. Kumar, S. Sundaree, E. O. Johnson [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2009. – Vol. 19. – P. 4492–4494.
- Synthesis of some novel 3,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazole derivatives and anticancer activity on EAC animal model / S. Dash, B. A. Kumar, J. Singh [et al.] // Med. Chem. Res. – 2011. – Vol. 20. – P. 1206–1213.
- Synthesis and antimycobacterial activity of 4-(5-substituted-1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyridines / G. Navarrete-Vasquez, G. M. Molina-Salinas, Z.V. Duarte-Fajardo [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2007. – Vol. 15. – P. 5502–5508.
- Synthesis of novel 5-aryl-2-thio-1,3,4-oxadiazoles and the study of their structure – anti-mycobacterial activities / F. Macaev, G. Rusu, S. Pogrebnoi [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2005. – Vol. 13. – P. 4842–4850.
- Kumar A. Synthesis and anti-inflammatory activity of newer quinazolin-4-one derivatives / A. Kumar, C.S. Rajput // Eur. J. Med. Chem. – 2009. – Vol. 44. – P. 83–90.
- Synthesis of some novel 2-substituted-5-[isopropylthiazole] clubbed 1,2,4-triazole and 1,3,4-oxadiazoles as potential antimicrobial and antitubercular agents / G.V. Suresh Kumar, Y. Rajendraprasad, B.P. Mallikarjuna [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 45. – P. 2063–2074.
- Synthesis, antimicrobial, and anti-HIV-1 activity of certain 5-(1-adamantyl)-2-substituted thio-1,3,4-oxadiazoles and 5-(1-adamantyl)-3-substituted aminomethyl-1,3,4-oxadiazoline-2-thiones / A.A. El-Emam, O.A. Al-Deeb, M. Al-Omar [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2004. – Vol. 12. – P. 5107–5113.
- Boyd M.R. Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen / M.R. Boyd, K.D. Paull // Drug Development Research. – 1995. – Vol. 34. – P. 91–109.
- Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay / M.C. Alley, D.A. Scudiero, P.A. Monks [et al.] // Cancer Research. – 1988. – Vol. 48. – P. 589–601.
- Grever M.R. The national cancer institute: cancer drug discovery and development program / M.R. Grever, S.A. Schepartz, B.A. Chabner // Seminars in Oncology. – 1992. – Vol. 19, №6. – P. 622–638.
- Shoemaker R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen / R.H. Shoemaker // Nature Reviews Cancer. – 2006. – Vol. 6. – P. 813–823.
- Rajak H. Synthesis and local anesthetic activity of some novel N-[5-(4-substituted)phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl]-2-(substituted)-acetamides / H. Rajak, M.D. Kharya, P. Mishra // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2008. – Vol. 341. – P. 247–261.
- Зіменковський Б.С. 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи / Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 106 с.
- Lesyk R. 4-Thiazolidones: Centenarian History, Current Status and Perspectives for Modern Organic and Medicinal Chemistry / R. Lesyk, B. Zimenkovsky // Curr. Org. Chem. – 2004. – Vol. 8, №16. – P. 1547–1578.

#### Відомості про авторів:

Лелюх М.І., асистент каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛМНУ ім. Данила Галицького.  
Гаврилук Д.Я., к. фарм. н., асистент каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, ЛМНУ ім. Данила Галицького.  
Зіменковський Б.С., д. фарм. н., зав. каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, ректор ЛМНУ ім. Данила Галицького.  
Лесик Р.Б., д. фарм. н., професор каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, декан фармацевтичного факультету ЛМНУ ім. Данила Галицького.

#### Адреса для листування:

Лелюх Мар'ян Іванович. 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69, каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛМНУ ім. Данила Галицького. E-mail: lelyukh.m@gmail.com

Надійшла в редакцію 27.02.2012 р.



Ю.В. Монайкіна, О.О. Тарханова, С.О. Васюк, В.В. Гладишев

## Кількісне визначення ділтіазему в субстанції спектрофотометричним методом

Запорізький державний медичний університет

### Ключові слова:

спектрофотометрія, ділтіазем,  
субстанція, кількісне визначення.

### Ключевые слова:

спектрофотометрия, дилтиазем,  
субстанция, количественное  
определение.

**Key words:** spectrophotometry,  
amlodipine, substance, quantitative  
determination.

Розроблено та валідовано нову спектрофотометричну методику встановлення кількісного вмісту ділтіазему в субстанції, заснована на вимірюванні абсорбції водного розчину препарату за довжини хвилі 237 нм. Запропонована методика відповідає вимогам ДФУ, що висуваються до аналітичних методик кількісного визначення лікарських речовин у субстанціях. Розрахована прогнозована повна невизначеність методики свідчить про її коректність і можливість відтворення в умовах інших лабораторій.

Разработана и валидирована новая спектрофотометрическая методика определения количественного содержания дилтиазема в субстанции, основанная на измерении абсорбции водного раствора препарата при длине волны 237 нм. Предложенная методика соответствует требованиям ГФУ, предъявляемым к методикам количественного анализа лекарственных веществ в субстанциях. Рассчитанная прогнозируемая полная неопределенность методики свидетельствует о ее корректности и возможности воспроизведения в условиях других лабораторий.

A new spectrophotometric method for the quantitative determination of diltiazem in pharmaceutical substances is developed and validated. The method is based on measurement of absorption of aqueous diltiazem solutions at 237 nm. The proposed method is valid according to the validation requirements of Ukrainian Pharmacopeia. The predicted total indeterminacy of the procedure confirms that the method is correct and could be used in quality control laboratories.

Захворювання серцево-судинної системи за поширеністю посідають одне з перших місць і потребують тривалої, а найчастіше навіть постійної підтримуючої терапії. Антагоністи кальцієвих каналів, представником яких є ділтіазем, завдяки антигіпертензивній та антиангінальній активності є препаратами вибору для лікування кардіологічних хвороб, особливо у випадках поєднання артеріальної гіпертензії з ішемічною хворобою серця. Безперечно, належна якість таких лікарських засобів є одним із найважливіших аспектів їх безпечного й ефективного застосування. Використання сучасних фізико-хімічних способів аналізу дозволяє забезпечити відповідний рівень контролю якості цих препаратів на всіх етапах виробництва – від субстанції до готового продукту. Тому для сучасного фармацевтичного аналізу актуальною є розробка високоточних, але при цьому валідних, доступних та експресних методик кількісного визначення.

Фармакопейні методики кількісного аналізу субстанції ділтіазему у Державній Фармакопеї України [1] та Британській Фармакопеї [2] представлені титруванням у неводному середовищі з потенціометричним фіксуванням точки кінця титрування, а також у Фармакопеї Сполучених Штатів [3] – методом рідинної хроматографії. Дані наукової літератури свідчать про використання для кількісного визначення ділтіазему вольтамперометричного способу аналізу [4], Раманівської спектроскопії у ближній ІЧ-області [5], спектрофотометрії у видимій ділянці спектра [6–8] та хроматографічних методів [9]. При детальному розгляді зазначених методик стає очевидним, що в більшості випадків їх недоліками

є тривалість процедури аналізу та пробопідготовки, значна вірогідність помилки в результаті застосування екстракції або висока вартість обладнання та його недоступність для лабораторій з контролю якості. Отже, нескладну та нетривалу у виконанні, високочутливу й валідну методику кількісного визначення ділтіазему за власним поглинанням в УФ області можна розглядати як розумну альтернативу існуючим методам.

### Мета роботи

Розробка та валідація нової спектрофотометричної методики кількісного визначення ділтіазему в субстанції.

### Матеріали і методи дослідження

*Об'єкти дослідження, розчинники та обладнання*

Об'єкт дослідження – субстанція ділтіазему. У якості розчинника застосовували воду дистильовану.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200, ваги електронні АВТ-120-5DM, мірний посуд класу А.

*Методика кількісного визначення ділтіазему в субстанції*

Точну наважку ділтіазему (0,0300–0,0560) вміщували в мірну колбу ємністю 200,0 мл, розчиняли в воді дистильованій і доводили цим же розчинником до позначки, перемішували. 2,00 мл отриманого розчину переносили в мірну колбу ємністю 25,00 мл та доводили водою дистильованою до позначки. Оптичну густину вимірювали на фоні розчинника при довжині хвилі 237 нм. Паралельно проводили визначення з 2,00 мл 0,0100% розчину порівняння ділтіазему, який готували шляхом розчинення в воді дистильованій точної наважки субстанції ділтіазему, що відповідала вимогам АНД. Розрахунок вмісту діючої



речовини у відсотках проводили за формулою 1:

$$C_{\%} = \frac{A \cdot C_0 \cdot 100,0 \cdot 25,00}{A_0 \cdot p \cdot 2,00 \cdot l}, \quad (1)$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;  
 $A_0$  – оптична густина розчину порівняння;  
 $C_0$  – концентрація спектрофотометрованого розчину порівняння ділтіазему (0,0016 г у 100 мл);  
 $p$  – наважка субстанції, г;  
 $l$  – товщина шару, см.

### Результати та їх обговорення

УФ-спектр ділтіазему в воді дистильованій характеризується кількома смугами поглинання. Для розробки методики кількісного визначення обрано смугу, що спостерігається при 230–245 нм з максимумом поглинання при 237 нм (рис. 1).

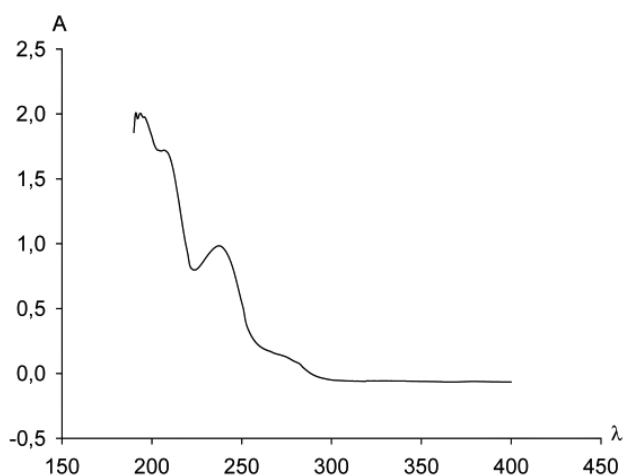


Рис. 1. УФ-спектр поглинання ділтіазему у воді дистильованій.

### Валідація методики

Розроблену методику кількісного визначення ділтіазему валідовано відповідно до вимог ДФУ згідно до стандартизованої процедури валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту [1,10].

Згідно з ДФУ [1], до кількісного вмісту ділтіазему в субстанції висуваються наступні вимоги: ділтіазему має бути від 98,5% до 101,0%. Виходячи з цього, можна визначити максимально припустиму невизначеність ( $\Delta_{As}$ ),

що дорівнює відносному допуску вмісту ( $B\%$ ) аналізованої субстанції, тобто  $\Delta_{As} = B = 1,0\%$  [1].

### Лінійність і діапазон застосування методики

Лінійність визначали у межах 70–130% від номінальної концентрації ділтіазему. Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення 0,0500% розчину ділтіазему – 0,60; 0,70; 0,80; 0,90; 1,00; 1,10 мл вміщували в колби ємністю 25,00 мл, доводили водою дистильованою до позначки та вимірювали оптичну густину отриманих розчинів. На основі отриманих даних будували графік залежності оптичної густини від концентрації ділтіазему. Числові показники лінійної залежності розраховували за допомогою регресійного аналізу методом найменших квадратів. Знайдено:  $y_i = 0,5110 x_i - 0,0074$ . Отримані величини: коефіцієнти  $b$ ,  $a$ , стандартні відхилення для  $b$  і  $a$  –  $s_b$ ,  $s_a$ , залишкове стандартне відхилення  $s_{x,0}$  (%) і коефіцієнт кореляції  $r$  наведено у таблиці 1.

Отримані згідно з ДФУ числові показники лінійної залежності свідчать, що виконуються усі вимоги щодо параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується в обраних діапазонах концентрацій (70–130%) (табл. 1).

### Збіжність і правильність

З трьох наважок досліджуваної речовини готували 3 розчини, з кожним з яких проводили по 3 паралельні виміри при аналітичній довжині хвилі (всього 9). Абсорбцію розчину порівняння вимірювали паралельно. Вміст ділтіазему у відсотках розраховували за формулою (1).

На основі отриманих результатів розраховували середнє значення  $\bar{X}$ , відносне стандартне відхилення ( $RSD$ ), відносний довірчий інтервал окремого ( $\Delta_x$ ) і середнього значення ( $\Delta_x$ ) (табл. 2).

Згідно з ДФУ, якщо 95% довірчий інтервал  $\bar{X}$  включає теоретичне значення 100%, різниця  $|\bar{X} - 100|$  є статистично незначущою та виключає наявність систематичної похибки. Запропонована методика є правильною, оскільки виконується нерівність  $|\bar{X} - 100| \leq \Delta_x$ .

Згідно з ДФУ, методика є точною на рівні збіжності, якщо одnobічний інтервал окремого значення ( $\Delta_x$ ) не перевищує максимально припустиму невизначеність ( $\Delta_{As}$ ) – 1%. Виходячи з наведених у табл. 2 даних, запропонована методика є точною.

Таблиця 1

### Числові показники лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
$b \pm (s_b)$	0,5110 ± (0,0023)	–	–
$a \pm (s_a)$	–0,0074 ± (0,0039)	$a \leq \Delta a = t(95\%; 4) \cdot s_a = 0,0108$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,2187	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%; 4) = 0,3602$	відповідає
$r$	0,9999	$\geq 0,997$	відповідає

Таблиця 2

### Визначення правильності та точності результатів кількісного визначення ділтіазему в субстанції

Лікарська речовина	$\bar{X}$	$ 100 - \bar{X} $	$RSD, \%$	$\Delta_x$	$\Delta_x$	$\Delta_{As}$
Ділтіазем	100,27	0,27	0,3775	0,7020	0,2902	1,00

## Розрахунок невизначеності пробопідготовки

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули (1)	Невизначеність, Δ%
Розчин порівняння		
1) Взяття наважки ділтіазему	$\rho_o$	0,02 мг/40,0 мг × 100 % = 0,05 %
2) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 200 мл	200,00	0,075 %
3) Взяття аліквоти піпеткою 2 мл	2,00	0,5 %
4) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 25 мл	25,00	0,23 %
Випробовуваний розчин		
1) Взяття наважки ділтіазему	$\rho$	0,02 мг/40,0 мг × 100 % = 0,05 %
2) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 100 мл	200,00	0,075 %
3) Взяття аліквоти піпеткою 2 мл	2,00	0,5 %
4) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 25 мл	25,00	0,23 %

**Робасність**

Оцінку робасності проводили на стадії розробки методики, тобто встановлювали стабільність розчинів у часі. Виявлено, що оптична густина забарвлених розчинів залишається стабільною протягом години.

**Прогноз повної невизначеності методики**

Для підтвердження коректності методики при відтворюванні в іншій лабораторії необхідно дати прогноз повної невизначеності методики. Повна невизначеність результатів аналізу не має перевищувати максимально припустимую невизначеність результатів аналізу ( $\Delta_{As}$ ). Повна невизначеність, що прогнозується, розраховується за формулою:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}$$

де  $\Delta_{SP}$  – невизначеність пробопідготовки;

$\Delta_{FAO}$  – прогнозована невизначеність вимірювань (кінцева аналітична операція) = 0,70% [11,12].

Для прогнозу невизначеності пробопідготовки методики розраховано похибки кожної операції для розчину порівняння та випробовуваного розчину, виходячи з роз-

рахункової формули кількісного визначення (1), а також загальну невизначеність ( $\Delta_{SP}$ ). Для цього використовували підхід і граничні невизначеності мірного посуду, описані в [13,14]. Дані наведено в *табл. 3*.

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0,05^2 + 0,075^2 + 0,5^2 + 0,23^2 + 0,5^2 + 0,075^2 + 0,5^2 + 0,23^2} = 0,79\%$$

$$\Delta_{As} = \sqrt{0,79^2 + 0,70^2} = 1,0\% \leq \max \Delta_{As} = 1,0\%$$

Прогнозована повна невизначеність результатів для методики кількісного визначення не перевищує критичного значення  $\max \Delta_{As} = 1,0\%$ . Отже, методика даватиме коректні результати і в інших лабораторіях.

**Висновки**

Розроблено чутливу, економічну й експресну спектрофотометричну методику кількісного визначення ділтіазему в субстанції за власним поглинанням, яку валідовано згідно до стандартизованої процедури валідації методом стандарту. Доведено, що опрацьована методика відповідає вимогам ДФУ за основними валідаційними характеристиками, зокрема лінійністю, діапазоном застосування, збіжністю, правильністю та робасністю.

**Список літератури**

1. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – С. 91–100, 423–424.
2. British Pharmacopeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2009.
3. United States Pharmacopeia 26. – USP Convention Inc. – Rockville, 2003.
4. Adsorptive stripping voltammetric determination of antihypertensive agent: diltiazem / M.A. Ghandour, E.A. Kasim, M.M Ali Azza et al. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2001. – Vol. 25 (3–4). – P. 443–451.
5. Near-infrared FT-Raman spectroscopy as a rapid analytical tool for the determination of diltiazem hydrochloride in tablets / Vergote G.J., Vervaeck C., Remon J.P. et al. // Eur. J. Pharm. Sci. – 2002. – Vol. 16 (1–2). – P. 63–67.
6. Rahman N. Extractive spectrophotometric methods for determination of diltiazem HCl in pharmaceutical formulations using bromothymol blue, bromophenol blue and bromocresol green / Rahman N., Hejaz-Azmi S.N. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2000. – Vol. 24 (1). – P. 33–41.
7. Rahman N. Spectrophotometric determination of diltiazem hydrochloride with sodium metavanadate / Rahman N., Hejaz-Azmi S.N. // Microchem. J. – 2000. – Vol. 65 (1). – P. 39–43.
8. Sanchez M.A. Liquid-liquid microextraction without phase separation in a multicommutated flow system for diltiazem determination in pharmaceuticals / Sanchez M.A., Rocha F.R.P. // Anal. Chim. Acta. – 2011. – Vol. 694 (1–2). – P. 95–99.
9. Devarajan P.V. High-performance thin-layer chromatographic determination of diltiazem hydrochloride as bulk drug and in pharmaceutical preparations / Devarajan P.V., Dhavse V.V. // J. Chromatogr. B. – Vol. 706 (2). – P. 362–366.
10. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – С. 58–68.
11. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – С. 187–214.
12. Стандартизована процедура валідації методик кількісного аналізу лікарських препаратів методом стандарту / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Н.В. Денисенко, Ю.В. Подпружников // Фармаком. – 2004. – №3. – С. 1–15.
13. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в различных лабораториях / А.И. Гризодуб, Н.Н. Зволинская, Н.Н. Архипова и др. // Фармаком. – 2004. – №2. – С. 1–16.
14. Гризодуб А.И. Валідація спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. – 2002. – №3. – С. 42–50.

**Відомості про авторів:**

Монайкіна Ю.В., аспірант каф. аналітичної хімії ЗДМУ. Тарханова О.О., к. фарм. н., асистент каф. аналітичної хімії ЗДМУ. Васюк С.О., д. фарм. н., професор каф. аналітичної хімії ЗДМУ. Гладішев В.В., д. фарм. н., професор, зав. каф. технології ліків ЗДМУ.

**Адреса для листування:**

Монайкіна Юлія Віталіївна. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. аналітичної хімії ЗДМУ. Тел. (0612) 34 21 81.

Надійшла в редакцію 29.12.2011 р.



А.И. Панасенко, В.П. Буряк, В.А. Салионов, Ю.В. Тимошик, И.А. Юрченко

## УФ-спектрофотометрия лекарственных средств, производных сиднонимина

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключові слова:** ідентифікація,  
сиднокарб, сиднофен,  
УФ-спектрофотометрія.

**Ключевые слова:**  
идентификация, сиднокарб,  
сиднофен,  
УФ-спектрофотометрия.

**Key words:** identification, Sydnocarb,  
Sydnophen, UV-spectrophotometry.

Вивчено УФ-спектри сиднофена та сиднокарба у розчинах різного ступеня полярності, що дозволило ідентифікувати типи переходу електронів, які зумовлюють виникнення спостережених смуг поглинання.

Изучены УФ-спектры сиднофена и сиднокарба в растворителях различной степени полярности, что позволило идентифицировать типы перехода электронов, которые обуславливают возникновение наблюдаемых полос поглощения.

UV-spectra of Sydnophen and Sydnocarb in different polarity solvents have been studied. It allowed to identify types of electron transitions, which were responsible of emergence of the observed absorption bands.

Лекарственные средства производные сиднонимина (сиднофен, сиднокарб) относятся к классу мезо-ионных соединений, имеющих в молекуле экзоциклические атомы азота и кислорода [9,10,17].

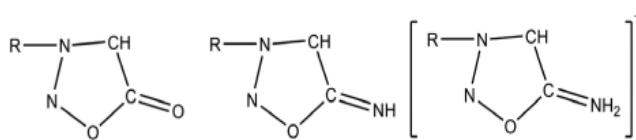
Сиднофен и сиднокарб находят широкое применение в медицинской практике в качестве психостимуляторов, проявляя вместе с тем выраженную антидепрессивную активность, что делает их весьма ценными препаратами для лечения астенодепрессивных состояний [4].

Изучению УФ-спектров сиднонов и сиднониминов посвящен ряд работ [8,9,13,15,16]. Сидноны характеризуются максимумом поглощения при 230–290 нм, что свидетельствует о наличии сопряженных связей в молекуле этих соединений. У сиднонов с ароматическими заместителями в положениях 3 и 4 кольца максимум при 290–292 нм сдвинут в длинноволновую область; одновременно проявляется второй максимум при 245–290 нм. Этот сдвиг Вакер и соавторы [13] объясняют наличием сопряжения между бензольным и сидноновым кольцами.

Е.В. Борисов и соавторы [1,2] изучили спектры поглощения 3-фенилсиднона в 21 растворителе. Установлено, что в неполярных растворителях имеется два плеча  $\approx 350$  нм ( $\lg \epsilon = 2,80$ ), которые исчезают в полярных растворителях. Они отнесены к  $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходом с  $p$ -орбиталей  $N_2$  и  $O_2$  атомов гетероцикла, т. к.  $N_3$ -атомы в сиднонах  $p$ -электронов не имеют, а полоса поглощения, отвечающая переходам с  $p$ -орбиталей  $O_1$ -атома лежит в более коротковолновой части спектра. Во всех полярных растворителях длинноволновая  $\pi \rightarrow \pi^*$ -полоса не изменила своего характера, а наблюдался сдвиг этой полосы в 6 М сульфатной кислоте, а интенсивность поглощения возрастала за счет наложения  $\pi \rightarrow \pi^*$ -полосы и полосы поглощения, относящихся к переходам в бензольном цикле.

Д.А. Бочвар и А.А. Богатурьянц [3] рассчитали молекулы сиднона (А), и сиднониминкатиона (В) по методу Пааризера-Парра-Попла (П-П-П). Установлено, что  $\pi$ -электронная система состоит из 8  $\pi$ -электронов. Особенно существенно по сравнению с А и Б повышены

порядки связей 1–2, 1–5, 4–5 в сиднониминкатионе, а связь 3–4 немного ослаблена:

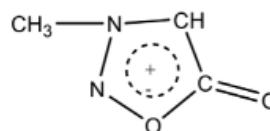


Сиднон /А/

сиднонимин /Б/

сиднониминкатион /Б/

Schmid [18] рассчитал электронную плотность и порядок  $\pi$ -связей для сиднона и 3-метилсиднона CNDOCL-методом, учитывающим взаимодействие только  $\pi$ -электронов. Установлено, что оба соединения имели большой отрицательный заряд на экзоциклическом атоме кислорода, который почти полностью нейтрализуется положительным зарядом у атома углерода, с которым он связан. В результате для сиднонов предложена структура, которая согласуется с азометиловой циклической структурой, предложенной В.Т. Ящунским [11]:



На основании данных научной литературы можно сделать вывод о существовании различных взглядов на точное химическое строение и природу полос поглощения электронных спектров изучаемых соединений. Отсутствуют данные по определению основных оптических характеристик УФ-спектров сиднофена и сиднокарба, в связи с чем не установлена связь между активностью и спектральными характеристиками исследуемых лекарственных средств и отсутствуют данные по определению вероятности и разрешенности электронных переходов.

### Цель работы

Структуру сиднониминов невозможно изобразить с помощью конвенциональных представлений о ковалентных или ионных связях, т. к. эти молекулы имеют сопряженную систему связей, к которой принадлежат

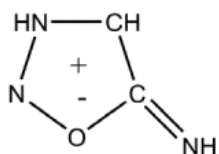
связи экзоциклической группы и поочередные частичные заряды всех атомов цикла. С нашей точки зрения, для изучения электронной структуры сиднофена и сиднокарба, объяснения природы наблюдаемых полос поглощения и выявления хромофоров необходимо изучить УФ-спектры указанных соединений в растворителях различной полярности.

#### Материалы и методы исследования

Измерение УФ-спектров растворов сиднофена и сиднокарба проводили с помощью спектрофотометра CARY 50 в кварцевых кюветках с толщиной рабочего слоя в 10 мм в диапазоне длин волн от 200 до 400 нм. В качестве растворителей использованы вода очищенная; 0,1 М раствор NaOH; 0,1 М раствор HCl; ацетатный буферный раствор с pH=3,85; концентрированная сульфатная кислота; 95% спирт этиловый; циклогексан; 25% раствор NaOH; диоксан и хлороформ. В связи с тем, что сиднофен и сиднокарб имеют высокие величины молярного коэффициента экстинкции ( $\epsilon_{\text{макс}}$ ), изучение их УФ-спектра проводили в растворах, концентрация которых составляет 1 мг%. Субстанции сиднофена и сиднокарба получены от заводов-изготовителей с приложением сертификатов об их качестве и полного соответствия веществ фармакопейным методам контроля. Все используемые реагенты и растворители имели квалификацию «х.ч.» и полностью удовлетворяли следующим требованиям: прозрачны в изучаемом диапазоне длин волн, устойчивые по отношению к УФ-излучению, обладали способностью растворять без разрушения изучаемые соединения, обладали достаточной степенью чистоты [6].

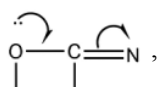
#### Результаты и их обсуждение

В молекулах сиднофена (3-β-фенил-изопропил-сиднонимина гидроксид) и сиднокарба (N-фенилкарбомоил-3-β-фенилизопропилсиднонимин) содержится 1,2,3-оксодиазоловый цикл с делокализованными двойными связями. Ядро молекулы препаратов представляет сиднонимин:



Лабильность атома водорода в положении 3 и возможность его перехода в положение 4 обуславливает делокализацию зарядов в сиднонимине.

Сиднофен можно рассматривать как фенамин, атом азота которого включен в сиднониминное ядро. Фенильный цикл не сопряжен с атомами азота, а в сиднониминном ядре содержится хромофор



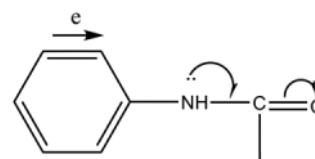
который может обуславливать возникновение полюса поглощения при 200 нм или даже при более коротких

длинах волн. Действительно, В.В. Огородникова и соавторы [5] обнаружили  $\lambda_{\text{макс}}$  в пределах 200–205 нм.

На спектральной кривой сиднофена наблюдаем высокоинтенсивную полосу с  $\lambda_{\text{макс}}$  в области 290–296 нм. В концентрированной сульфатной кислоте происходит гипсохромное смещение  $\lambda_{\text{макс}}$  до 281 нм. В щелочных же растворах эти максимумы вообще исчезают, а появляются новые  $\lambda_{\text{макс}}$  при 230–233 нм. Так как под действием щелочей остается неизменным фенильный цикл, полосу с  $\lambda_{\text{макс}}$  при 290–296 нм следует рассматривать как p-π-сопряжения в сиднониминном ядре. К аналогичному выводу пришли на основании других данных В.Т. Ящунский и соавторы [5].

В связи с этим, максимумы поглощения сиднофена в щелочных растворах в области 230–233 нм следует рассматривать как относящиеся к полосе  ${}^1L_b$  [1,2,8,9,11,14]. В этой же полосе в гексановом и этанольном растворах наблюдаются изгибы. В других растворителях максимумов в этой полосе не наблюдается.

Сиднокарб можно рассматривать как производное сиднофена, в молекуле которого имеется добавочный фенилиминокарбонильный субституент. В УФ-спектрах этого соединения наблюдаются 2 высокоинтенсивные полосы поглощения. Первая полоса поглощения сиднокарба имеет  $\lambda_{\text{макс}}$ , расположенные в основном в области 245–259 нм и только в сильноокислых средах, а также в 25% натрий гидроксиде происходит смещение максимумов (в 0,1 М растворе хлоридной кислоты гипсохромно до 234 нм, в концентрированной сульфатной кислоте и 25% натрий гидроксиде батохромно – до 275–276 нм). Эту полосу рассматриваем как типичную  ${}^1L_b$ -полосу, аналогично как в случае бензола и его простейших гомологов. Возможно, что в первой полосе имеются также наложения «ацетонилдидной полосы», т. к. ацетонилдид характеризуется в этанольном растворе высокоинтенсивным максимумом при 242 нм [9], в результате наличия p-π-сопряжения в хромофоре:



$\lambda_{\text{макс}}$  242 нм

Вторая полоса поглощения сиднокарба характеризуется  $\lambda_{\text{макс}}$  в области 312–344 нм (для сиднофена – 290–296 нм), и ее следует рассматривать как результат p-π-сопряжения в сиднониминном ядре. Батохромное смещение полосы по отношению к сиднофену вызвано ацилированием иминной группы. Максимум во второй полосе поглощения сиднокарба в сильноокислой среде смещается гипсохромно (в 0,1 м растворе хлоридной кислоты до 294 нм) или вообще исчезает (в концентрированной сульфатной кислоте), а в 25% натрий гидроксиде смещается батохромно до 381 нм.

Для выявления биологически активной части мо-

лекулы сиднофена и сиднокарба (фармакофоров) и установления возможной связи между их активностью и спектральными характеристиками, а также для определения вероятности и разрешенности электронных переходов в полосах поглощения рассчитаны основные оптические характеристики электронных спектров поглощения (ООХЭСП): волновое число в максимуме поглощения –  $\nu_{\text{макс}}$  (в  $\text{см}^{-1}$ ); полуширина полосы поглощения  $\Delta\nu_{1/2}$  (в  $\text{см}^{-1}$ ); интегральная интенсивность полосы поглощения –  $A$  (в  $\text{л/моль}\cdot\text{см}^2$ ); сила осциллятора электронного перехода –  $f$ ; матричный элемент перехода  $M_{\text{ик}}$  [7].

Как установлено ранее, сиднофен характеризуется одной, но интенсивной полосой с  $\epsilon_{\text{макс}} 7600$ , средней шириной ( $\Delta\nu_{1/2} 4750 \text{ см}^{-1}$ ). Величины  $A$  и  $f$  являются средними и указывают, что  $p$ - $\pi$ -сопряжения в оксидиазоновом цикле является вероятным и разрешенным. Матричный элемент перехода  $M_{\text{ик}}$  характеризуется довольно высокой величиной  $2,94 \cdot 10^{-18}$ .

Введение в молекулу сиднофена фенилиминокарбонильного субституента, т. е. переход к сиднокарбу, приводит к возникновению 2 полос поглощения, которые являются в 2,0–3,4 раза более интенсивными, чем полоса

поглощения сиднофена. Указанные полосы сравнительно широкие  $\Delta\nu_{1/2}$  от 3870 и 4890  $\text{см}^{-1}$ . Интегральная интенсивность и сила осциллятора полос поглощения также являются в 2,3–2,8 раза более высокими, чем полосы поглощения сиднофена. Таким образом, введение указанного субституента в молекулу сиднофена приводит к тому, что переходы электронов становятся более вероятными и разрешенными. Матричные элементы перехода сиднокарба в 1,6 раза выше, чем для сиднофена.

#### Выводы

На спектральной кривой сиднофена наблюдается высокоинтенсивная полоса с  $\lambda_{\text{макс}}$  в области 290–296 нм, соответствующая  $p$ - $\pi$ -сопряжению в сиднониминном ядре.

Сиднокарб характеризуется 2 полосами поглощения с  $\lambda_{\text{макс}}$  в области 245–259 и 312–344 нм; первая полоса является бензольной, типа  ${}^1L_b$ , вторая возникает в результате  $p$ - $\pi$ -сопряжения в сиднониминном ядре.

Все переходы электронов, обуславливающих возникновение полос поглощения сиднофена и сиднокарба, являются разрешенными и в большинстве случаев отличаются высокой вероятностью.

#### Список литературы

1. Борисов Е.В. Влияние растворителей на электронный спектр 3-фенилсиднона. Определение дипольного момента 3-фенилсиднона в синглетном возбужденном состоянии / Е.В. Борисов, Л.Е. Холодов, В.Т. Ящунский // Оптика и спектроскопия, 1982. – Т. 33, №3. – С. 444–449.
2. Борисов Е.В. Сидноны и сиднонимины как заместители / Е.В. Борисов, Л.Е. Холодов, В.Т. Ящунский // Реакционная способность органических соединений – Тарту, 1980. – Т.7. – Вып. 3. – С. 707–717.
3. Бочвар Д.А. Электронные строения сопряженных систем с большими эффективными заядами. II. Сиднон, сиднонимин, сиднониминкатион / Д.А. Бочвар, А.А. Богатурьянц // Теор. и эксперим. Химия. – 1989. – Т. 5, №1. – С. 19–25
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2010. – 1216 с.
5. Огородникова В.В. О коротковолновой полосе в электронных спектрах сиднонов и сиднониминнов / В. В. Огородникова, И. С. Слюсаренко, В. Т. Ящунский // ХТС. – 1982. – №4. – С. 464–465.
6. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии / Райхардт К.; пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 763 с.
7. Свердлова О.В. Электронные спектры в органической химии / Свердлова О.В. – 2-е изд., перераб. – Л.: Химия, 1985. – 248 с.
8. Шейнкер Ю.М. О таутомерии некоторых производных гетероциклических соединений. X. Таутомерия ацилированных гетероциклических аминов / Ю.М. Шейнкер, М.Е. Переслени, Н.П. Засимова, Ю.И. Померанцев // Ж. физ. Химии. – 1989. – Т. 33, вып. 9. – С. 1096–1109.
9. Штерн Э. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии / Штерн Э., Тиммонск К. – М.: Мир, 1984. – 296 с.
10. Ящунский В.Т. Химия сиднониминнов / В.Т. Ящунский, Л.Е. Холодов // Успехи химии. – 1990. – Т. 49, №1. – С. 54–91.
11. Ящунский В.Т. Сидноны и сиднонимины. XII. Ультрафиолетовые спектры сиднониминнов / В.Т. Ящунский, Е.М. Переслени // Ж. органич. химии, 1982. – Т. 32, №5 – С. 1687–1690.
12. Ящунский В.Т. Спектроскопическое изучение строения и свойств сиднониминнов / В.Т. Ящунский, Е.М. Переслени, Ю.Н. Шейнкер // Изв. АН СССР, сер. физ., 1982. – Т. 26, №10. – С. 1295–1298.
13. Baker W. Cyclic mesoionic compounds. Part I. The structure of the sydnones and related compounds / W. Baker, W. D. Ollis, V. D. Poole // I. Chem. Soc., 1989. – №2. – P. 307–314.
14. Daeniker H.U. Heilmittelchemische studien in der heterocyclischen Reiche // H.U. Daeniker, I. Druey // Helv. chim. Act. – 1997. – B. 40, №4. – S. 918–924.
15. Hammock D.L. Chemical and physical properties of some sydnones / D.L. Hammock // I. Chem. Soc. – 1991. – P. 3303–3308.
16. Nonbenzenoid aromatics / Ed. by I. P. Snyder. – Academic Press: N.I., 1999. – Val. 1. – P. 273–279.
17. Owen T. Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy / Owen T. – A. Primer, Palo Alto, C. A. Hewlett-Packard Co., 2000. – 138 p.
18. Schmid I.H. A CNDOCL study of the electronic structure of sydnone and 3-methylsydnone // I.H. Schmid // J. mol. Struct. – 1990. – V. S, №3. – P. 236–240.

#### Сведения об авторах:

Панасенко А.И., д. фарм. н., профессор, зав. каф. токсикологической и неорганической химии ЗГМУ.

Буряк В.П., д. фарм. н., профессор каф. токсикологической и неорганической химии ЗГМУ.

Салионов В.А., магистрант каф. токсикологической и неорганической химии ЗГМУ.

Тимошик Ю.В., к. фарм. н., ассистент каф. аналитической химии ЗГМУ.

Юрченко И.А., магистр фармации, аспирант каф. токсикологической и неорганической химии ЗГМУ.

#### Адрес для переписки:

Буряк Валерий Прокофьевич. 69035, г. Запорожье, пр-т Маяковского, 26, каф. токсикологической и неорганической химии ЗГМУ. Тел.: (0612) 34 22 61. E-mail: buryak@zsmu.zp.ua

Надійшла в редакцію 01.12.2011 р.



В.В. Прокопець, О.А. Здорик, О.А. Євтіфєєва, К.І. Проскуріна, В.А. Георгіянц

## Валідація методик ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової в екстемпоральних лікарських засобах

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** валідація аналітичних методик, екстемпоральні лікарські засоби, кислота нікотинова.

**Ключевые слова:** валидация аналитических методик, экстремпоральные лекарственные средства, кислота никотиновая.

**Key words:** validation of analytical methods, extemporaneous medicines, nicotinic acid.

Для хімічного аналізу в умовах аптек екстемпоральних лікарських засобів, що містять кислоту нікотиніву, запропоновано методики ідентифікації та кількісного визначення. Для запропонованих методик контролю якості визначено умови виконання аналізу та визначено валідаційні характеристики. За результатами валідації методик ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової в складі лікарських засобів аптечного виготовлення доведено, що методики можуть бути коректно відтворені та придатні для використання в умовах аптек.

Для химического анализа в условиях аптек экстремпоральных лекарственных средств, содержащих кислоту никотиновую, предложены методики идентификации и количественного определения. Для предложенных методик контроля качества определены условия выполнения анализа и исследованы валидационные характеристики. По результатам валидации методик идентификации и количественного определения кислоты никотиновой в составе лекарственных средств аптечного приготовления доказано, что методики могут быть корректно воспроизведены и пригодны для использования в условиях аптек.

Identification and quantitative determination methods of nicotinic acid were proposed for chemical analysis of the extemporaneous medicines in pharmacies. For the proposed quality assurance methods the conditions of analysis were characterized and validation parameters were calculated. According to the results of the validation of identification and quantitative determination methods of nicotinic acid in the extemporaneous medicines it was proved that the methods can be correctly reproduced, and are suitable for use in pharmacies.

У сучасній редакції ДФУ наведено методики контролю якості лише для субстанцій, ЛРС та обмеженого переліку готових лікарських препаратів [1], але коли справа стосується аналізу лікарських засобів екстемпорального виготовлення, провізор-аналітик не має змоги керуватись рекомендованими ДФУ методиками, тому виникає потреба у використанні методик, що спеціально призначені для аналізу екстемпоральних лікарських засобів (ЕЛЗ).

За останні роки питанню контролю якості лікарських засобів аптечного виготовлення присвячено значну кількість робіт [2,3], розроблено процедури валідації методик ідентифікації та кількісного визначення ЕЛЗ, опубліковано дослідження, що стосуються валідації методик аналізу ЕЛЗ [4,5], розроблено керівництва з належної фармацевтичної практики тощо [6,7]. Проте залишається велика кількість препаратів у різних лікарських формах, для яких валідацію хімічних методик контролю якості досі не проводили, зокрема це стосується лікарських форм, що містять кислоту нікотиніву.

Останні дослідження контролю якості ЕЛЗ, що містять кислоту нікотиніву, проводили ще за радянських часів [8,9]. Регламентовані вони вимогами, встановленими ГФ Х та ГФ ХІ, що значно відрізняються від сучасних вимог ДФУ, узгодженої з Європейською Фармакопеею.

### Мета роботи

Приведення до вимог ДФУ, удосконалення та валідація методик ідентифікації та кількісного визначення

кислоти нікотинової в лікарських формах аптечного виготовлення.

### Матеріали і методи дослідження

*Об'єкти дослідження, реактиви й обладнання*

Для дослідження відібрано 2 прописи, що містять кислоту нікотиніву (0,05% водний розчин) і складний порошок (0,015 г кислоти нікотинової та 0,3 г цукру) [10].

Для виконання дослідів використовували субстанцію кислоти нікотинової виробництва Індії, поставник – «Aarti Drugs Limited», ООО НПЦ «Бионика», (номер серії 100419), що відповідає вимогам ДФУ. У роботі використано мірний посуд класу А, аналітичні ваги АN 204 S/A METTLER TOLEDO та Kern ABJ 220-4M реактиви та титровані розчини, що відповідають вимогам ДФУ.

*Приготування модельних зразків і діапазон визначення методики*

Дослідження проводили відповідно до рекомендацій, поданих у джерелах наукової літератури [4,5]. Валідацію проводили в діапазоні застосування 70–130% від кількості кислоти нікотинової в лікарській формі. Для 0,05% розчину кислоти нікотинової готували серію з 5 модельних розчинів у діапазоні застосування. Модельні зразки готували так: точну наважку кислоти нікотинової (0,0350 г, 0,0425 г, 0,0500 г, 0,0575 г, 0,0650 г) поміщали в мірну колбу 100,0 мл, додавали 70 мл води Р, перемішували до повного розчинення, доводили об'єм розчину до 100,0 мл.

Для складного порошку модельні зразки готували так: точну наважку кислоти нікотинової в діапазоні за-

стосування 70–130% (0,1050 г, 0,1280 г, 0,1500 г, 0,1730 г, 0,1950 г) та цукру за прописом поміщали в ступку та ретельно перемішували.

*Методики ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової*

Для аналізу субстанції кислоти нікотинової в ДФУ, Європейській фармакопеї наведено визначення  $t_{пл}$ , ІЧ-спектру поглинання, реакцію з розчином ціаноброміду Р та аніліну Р для ідентифікації та алкаліметричне титрування для кількісного визначення [1]. Зрозуміло, що не всі ці методики можна застосувати для аналізу кислоти нікотинової в готових лікарських формах аптечного виготовлення. Здійснено пошук хімічних методик контролю якості кислоти нікотинової [8,9,11], підбір аліквот і концентрації реактивів з урахуванням вмісту кислоти нікотинової у досліджуваних лікарських засобах, щоб удосконалені методики могли бути застосовані для аналізу в умовах аптек та відповідали вимогам ДФУ. В таблиці 1 наведено методики, обрані для дослідження та подальшої валідації.

**Результати та їх обговорення**

Валідацію методик ідентифікації проводили з використанням стандартизованої процедури для методик з бінарним відгуком [5]. Основними критеріями, які оцінювали під час процедури валідації, були специфічність і достовірність відтворення ефекту реакції в діапазоні

застосування (70–130%). Отримані результати порівнювали з результатами холостого та контрольного дослідів. Під час досліджень встановлено, що важливим фактором, який зумовлює достовірність відтворення ефекту реакції, є кількість кислоти нікотинової в досліджуваних лікарських формах. Експериментальним шляхом визначено концентраційні діапазони, для яких достовірність відтворення ефекту реакції становить 100%.

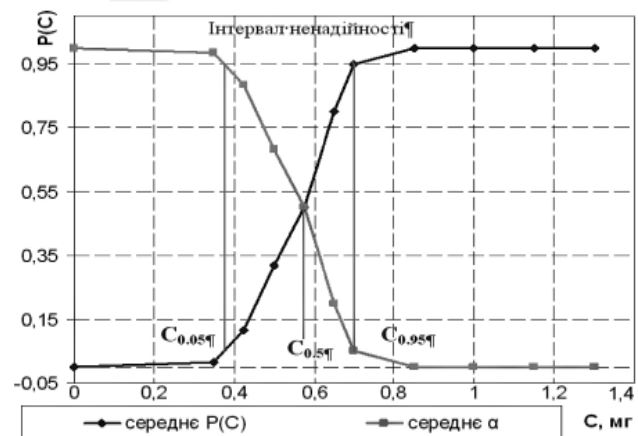


Рис. 1. «Крива ефективності» виявлення кислоти нікотинової за реакцією зі спиртовим розчином 2,4-динітрохлорбензолу Р.

Таблиця 1

**Методики ідентифікації та кількісного визначення кислоти нікотинової у складі різних лікарських форм**

Склад 1: Sol. Acidi nicotini 0,05%	Склад 2: Ac. nicotini 0,015 Sacchari 0,3
Ідентифікація	
Реакція з 2,4-динітрохлорбензолом та 96% розчином спирту етилового	
2,00 мл 0,05% водного розчину кислоти нікотинової поміщають у фарфорову чашку та випарюють при нагріванні на водяній бані. До сухого залишку додають 0,5 мл 1% спиртового розчину 2,4-динітрохлорбензолу і знову випарюють на водяній бані. Після охолодження додають по 2–3 краплі розчину натрію гідроксиду Р та 96% спирту етилового. Розчин набуває фіолетово-червоного забарвлення.	0,02 г порошку поміщають в пробірку, додають 1,00 мл 1% спиртового розчину 2,4-динітрохлорбензолу і випарюють досуха на водяній бані. До охолодженого залишку додають 0,1 мл розчину натрію гідроксиду Р та 0,1 мл 96% спирту етилового. Спостерігається червоне забарвлення розчину, що з часом переходить у жовте.
Реакція з розчином ціаноброміду Р та аніліну Р	
До 1,00 мл 0,05% розчину кислоти нікотинової додають 5–6 крапель розчину ціаноброміду Р і 0,5 мл 25 г/л аніліну Р. При струшуванні поступово розчин набуває жовтого забарвлення.	0,01 г порошку розчиняють в 1,00 мл води Р і додають 5–6 крапель розчину ціаноброміду Р і 0,5 мл 25 г/л аніліну Р. При струшуванні розчин поступово набуває жовтого забарвлення.
Реакція з солями міді (II)	
1,00 мл 0,05% розчину кислоти нікотинової поміщають у пробірку, підігривають на водяній бані та додають 1,00 мл розчину міді ацетату – відбувається випадіння осаду синього кольору.	-
Кількісне визначення	
Алкаліметричне титрування	
10,00 мл 0,05% розчину кислоти нікотинової поміщають у колбу 25,00 мл і титрують 0,01 М розчином натрію гідроксиду до появи рожевого забарвлення (індикатор – фенолфталеїн). 1 мл 0,01 М розчину натрію гідроксиду відповідає 0,001231 г кислоти нікотинової.	0,25 г порошку поміщають у колбу для титрування і розчиняють в 5,00 мл води Р. Додають 1–2 краплі індикатору – розчин фенолфталеїну Р1 і титрують 0,05 М розчином натрію гідроксиду до появи рожевого забарвлення. 1 мл 0,05 М розчину натрію гідроксиду відповідає 0,006155 г кислоти нікотинової.

Таблиця 2

**Критерії прийнятності валідаційних характеристик**

Критерії прийнятності	Концентрація кислоти нікотинової мг/мл	
	0,05	0,015
допуски вмісту за АНД, %	±15	±20
max Δ <sub>As</sub> , %	4,8	6,4
max δ <sub>RL(70, 130)</sub> , %	3,22	4,29
max S <sub>o</sub> , %	2,7105	3,6140
min r	0,9924	0,9864
max a	5,1200	6,8267

На рис. 1 зображено криву ефективності, що характеризує залежність імовірності виявлення кислоти нікотинової (P<sub>(C)</sub>) від її концентрації (C<sub>k</sub>) для реакції зі спиртовим розчином 2,4-динітрохлорбензолу Р. Як видно з графіку, при концентраціях 0,4 (C<sub>0,05</sub>) – 0,7 (C<sub>0,95</sub>) мг/мл спостерігається інтервал ненадійності, виходячи з чого для аналізу у 0,05% розчині та складному порошку запропоновано концентраційні діапазони 0,7–1,3 мг/мл та 0,7–1,3 мг відповідно, для яких характерна 100% достовірність ефекту реакції.

Для методик з розчином ціаноброміду Р та аніліну Р, 100% достовірність відтворення ефекту реакції спостерігали в таких діапазонах виявлення: 0,3–0,6 мг/мл для 0,05% водного розчину і 0,3–0,6 мг для порошку.

Через можливість виявлення хибного позитивного результату ідентифікацію за реакцією з міді ацетатом запропоновано лише для розчину кислоти нікотинової, за результатами валідації для якої встановлено концентраційний діапазон 0,35–0,65 мг/мл.

Для вивчення методик кількісного визначення спочатку розраховано критерії прийнятності валідаційних характеристик залежно від норм відхилень (табл. 2) [1,4].

Для методик алкаліметричного визначення кількісного вмісту кислоти нікотинової розраховано повну невизначеність аналізу, що складає 1,11% для 0,05% водного розчину та 1,31% для складного порошку з цукром і задовольняє критеріям прийнятності. Методики алкаліметричного визначення провалідовано за наступними характеристиками: лінійність, прецизійність, правильність, специфічність і відтворюваність [1]. Валідацію проводили за стандартизованою процедурою [1,4], отримані результати наведено у таблиці 3.

Таблиця 3

**Валідаційні характеристики методик алкаліметричного титрування випробуваних ЕЛЗ, що містять кислоту нікотиніву**

Лік. форма	Склад 1		Склад 2	
	Лаб.1	Лаб.2	Лаб.1	Лаб.2
Валідаційні параметри				
V <sub>L</sub> – V <sub>H</sub> , %	85–115		80–120	
Прогноз повної невизначеності аналізу				
Δ <sub>As,r</sub> , %	1,11%		1,31%	
maxΔ <sub>As</sub> , %	4,8%		6,4%	
Вивчення лінійності				
b	1,0072	1,0025	0,9974	1,0002
S <sub>b</sub>	0,0072	0,0051	0,0062	0,0114
/b-1/	0,0072	0,0025	0,0026	0,0002
Критерій статистичної невизначеності b (/b-1/ ≤ 1,02 x S <sub>b</sub> )				
	≤0,0074	≤0,0052	≤0,0049	≤0,0090
	викон	викон	викон.	викон.
a	-0,1684	-0,1880	0,4275	-0,0360
S <sub>a</sub>	0,7434	0,5166	0,6329	1,1716
Критерій статистичної невизначеності a (/a/ ≤ 1,02 x S <sub>a</sub> )				
	≤0,7583	≤0,5270	≤0,4999	≤0,9256
	викон	викон	викон.	викон.
S <sub>o</sub>	0,6059	0,4145	0,5180	0,9346
RSD <sub>o</sub> , %			2.08	
R	0,9997	0,9998	0,9998	0,9992
Критерій δ <sub>RL 70</sub> та δ <sub>RL 130</sub> , %				
	3,22		4,29	
δ <sub>RL 70</sub> , %	0,51	0,015	0,35	-0,03
δ <sub>RL 130</sub> , %	0,58	0,0935	0,07	-0,01
	викон	викон	викон.	викон.
Вивчення прецизійності та відтворюваності				
Z <sub>intra</sub> , %	100,30		100,16	
SD <sub>z</sub> , %	0,5760		0,4317	
Δ <sub>intra</sub> , %	0,3578		0,2682	



Як можна побачити з результатів дослідження, у всіх випадках виконуються вимоги до статистичної незначущості величин /a/ та /b-1/, систематичної похибки  $\delta_{RL\ 70\%-130\%}$ , що свідчить про придатність цієї методики [4] для проведення хімічного аналізу препаратів з кислотою нікотиновою в умовах аптечних закладів. Експериментальним шляхом доведено, що наявність цукру у складі порошку не впливає на результати аналізу.

#### Список літератури

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с. Доповнення 1. – Харків: PIPEГ. – 2004. – 520 с. Доповнення 2. – Харків: PIPEГ. – 2008. – 608 с.
2. Kupiec Thomas C. Analytical Testing of Extemporaneously Compounded Preparations / Kupiec Thomas C. // International Journal of Pharmaceutical Compounding. – 2000. – №2. – P. 105–107.
3. Allen Loyd V Jr. Cyanocobalamin, Choline, and Niacinamide Injection / Allen Loyd V Jr. // International Journal of Pharmaceutical Compounding. – 2010. – № 4. – P. 339.
4. Евтіфеева О.А. Титриметрический метод анализа в условиях аптек и лабораторий по контролю качества лекарственных средств: проблемы и подходы / Евтіфеева О.А., Георгіянци В.А. // Фармаком. – 2008. – №2. – С.65 – 77.
5. Євтіфеева О.А. Стандартизація підходів до оцінки хімічних методів ідентифікації речовин, які входять до складу екстемпоральних лікарських препаратів / О.А. Євтіфеева // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – №1. – С. 19–24.
6. Best Practices for Hospital and Health-System Pharmacy: Positions and Guidance Documents of ASHP 2009–2010 / American Society of Health-System Pharmacists (ASHP), 2009, Bethesda. – 684 p.
7. Good Pharmacy Practice (GPP) in developing countries. Supplementary guidelines for stepwise implementation / International Pharmaceutical Federation FIP. – The Hague: FIP: Section Community Pharmacy, 1999. – 16 p.
8. Кулешова М.И. Анализ лекарственных форм, изготавливаемых в аптеках / Кулешова М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. – М.: Медицина, 1989. – 228 с.
9. Максютин Н.П. Методы идентификации фармацевтических препаратов / Максютин Н.П., Каган Ф.Е., Кириченко Л.А. и др.; под ред. Н.П. Максютинной – К.: Здоров'я, 1978. – 240 с.
10. Справочник экстемпоральной рецептуры / Под ред. А.И. Тихонова. – К.: МОРИОН, 1999. – 496 с.
11. Clarke's analysis of drugs and Poisons / Edited by A. C. Moffat, M. D. Osselton and B. Widdop. – London: Pharmaceutical Press, 2004. 1632 p.
12. Наказ МОЗ України № 626 від 15.12.2004 р «Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки» (зі змінами та доповненнями) // Еженедельник «Аптека». – 2005. – №3. – С. 74–76.

#### Відомості про авторів:

Прокопець В.В., ст. лаборант коледжу НФаУ.

Здорик О.А., асистент каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Євтіфеева О.А., доцент каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Проскуріна К.І., асистент каф. якості стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Георгіянци В.А., професор, зав. каф. фармацевтичної хімії НФаУ.

#### Адреса для листування:

Здорик Олександр Анатолійович. 61001, м. Харків, пл. Повстання, 17, каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ШКСФ НФаУ.

Тел.: (057) 731 92 76.

E-mail: riboflavin@rambler.ru

Надійшла в редакцію 01.02.2012 р.



О.О. Тарханова, А.М. Постика, Ю.В. Монайкіна, С.О. Васюк, Д.І. Дочинець

## Застосування солей тетразолію для кількісного визначення антибіотиків цефалоспоринового ряду

Запорізький державний медичний університет

### Ключові слова:

спектрофотометрія, цефалоспоринові антибіотики, солі тетразолію, кількісне визначення, полярографія, квантово-хімічні розрахунки.

### Ключевые слова:

спектрофотометрия, цефалоспориновые антибиотики, соли тетразолия, количественное определение, полярография, квантово-химические расчеты.

**Key words:** spectrophotometry, cephalosporin antibiotics, tetrazolium salts, quantitative determination, polarography, quantum chemical analysis.

Запропоновані *n*-нітротетразолій фіолетовий та *n*-нітротетразолію хлорид як високочутливі реагенти для спектрофотометричного визначення цефалоспоринових антибіотиків. Розроблені методики є валідними та характеризуються високою чутливістю, точністю та простотою виконання. На основі результатів полярографічних досліджень і квантово-хімічних розрахунків встановлено основні закономірності між будовою досліджуваних сполук, їх відновними властивостями та здатністю вступати в реакцію з солями тетразолію.

Предложены *n*-нитротетразолий фиолетовый и *n*-нитротетразолия хлорид как высокочувствительные реагенты для спектрофотометрического определения цефалоспориновых антибиотиков. Разработанные методики валидны и характеризуются высокой чувствительностью, точностью и простотой выполнения. На основе результатов полярографических исследований и квантово-химических расчетов определены основные закономерности между строением исследуемых веществ, их восстановительными свойствами и способностью вступать в реакцию с солями тетразолия.

*n*-Nitrotetrazolium violet and *n*-nitrotetrazolium chloride are proposed as high sensitive reagents for the quantitative determination of cephalosporin antibiotics. The developed method is valid, highly sensitive, precise and simple. The main dependences between chemical structure of investigated antibiotics, their reducing properties and reaction ability were established according to the polarographic and quantum chemical analysis data.

Структурною основою цефалоспоринових антибіотиків є комбінована β-лактам-Δ<sup>3</sup>-дигідротіазінонова система. Для їх визначення застосовують спектральні, хроматографічні та електрохімічні методи [1]. Цефалоспоринові антибіотики згідно ДФУ (цефтриаксон, цефалексин, цефазолін, цефотаксим у субстанціях), Британської Фармакопеї (ВР) та Фармакопеї Сполучених Штатів (USP) (цефтриаксон, цефалексин, цефазолін, цефотаксим, цефоперазон, цефуроксим у субстанціях і в лікарських формах) визначають методом рідинної хроматографії [2–4]. Однак методи з використанням хроматографії не завжди доступні через те, що лабораторії з контролю якості ліків не оснащені спеціальною апаратурою. Отже, виникає необхідність звернутись до доступнішого способу, зокрема спектрофотометрії у видимій області спектра. Слід зазначити, що описані в науковій літературі спектрофотометричні методики кількісного визначення зазначених антибіотиків здебільшого вимагають значних витрат часу на виконання аналізу [5–8] або характеризуються невисокою чутливістю [9,10].

Солі тетразолію давно й успішно використовують у біохімічному та фармацевтичному аналізі завдяки їх окислювальним властивостям [11,12]. Так, тетразолій синій і 2,3,5-трифенілтетразолію хлорид є фармакопейними реагентами для визначення стероїдів у субстанціях і лікарських формах [3,4]. У здійсненому дослідженні застосовано нітропохідні солей тетразолію – *n*-нітротетразолію хлорид (*n*-НТХ) та *n*-нітротетразолій фіолетовий (*n*-НТФ). Останні є універсальними і дуже чутливими окислювальними реагентами з високим

редокс-потенціалом і стабільністю розчинів [13,14], але до сьогодні не знайшли застосування у фармацевтичному аналізі.

### Мета роботи

Розробити зручні, економічні, високочутливі й експресні спектрофотометричні методики кількісного визначення антибіотиків цефалоспоринового ряду за реакціями з *n*-НТХ та *n*-НТФ та дослідити взаємозв'язок між структурою досліджуваних сполук, їх окислювально-відновними властивостями та реакційною здатністю солей тетразолію.

### Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження, застосовані реагенти та обладнання

Об'єктами дослідження були ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі, цефазоліну натрієвої солі, цефалексину, цефотаксиму натрієвої солі, цефуроксиму натрієвої солі; лікарські засоби – капсули цефалексину 0,25 г/0,3005 г (ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод») серія 50307, порошки для приготування суспензій «Лексин 250» 5 мл/250 мг цефалексину та «Лексин 125» 5 мл/125 мг цефалексину («Аль-Хікма Фармасьютикалз», Йорданія) серії 1721 та 4242 відповідно, порошки для приготування ін'єкційних розчинів – цефтриаксону натрієва сіль 0,5 г та 1,0 г (ФФ «Дарниця») серії NX0070907 та NR0010606 відповідно; цефазоліну натрієва сіль 0,5 г та 1,0 г (ФФ «Дарниця») серії NZ0030307 та NC0010207 відповідно.

Використовували реактиви і розчинники: 2-(4-нітрофеніл)-3,5-дифеніл-2Н-тетразолій хлорид (*n*-НТХ) кваліфікації хч, 2-(4-нітрофеніл)-5-феніл-3-(α-нафтил)

тетразолій хлорид (*n*-НТФ) кваліфікації хч, *n*-пропанол кваліфікації ч.д.а., ДМФА кваліфікації ч.д.а., 0,1М, 0,5М, 2М розчини NaOH, 0,1М, 2М розчини HCl.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200, рН-метр-мілівольтметр рН-150М, полярограф РА-2 з записуючим пристроєм ХУ 4103, ваги електронні АВТ-120-5DM, мірний посуд класу А.

*Загальна методика кількісного визначення цефалексину, цефазоліну натрієвої солі та цефтриаксону натрієвої солі*

Аліквотну частину – 0,08–0,20 мг розчину цефалексину у *n*-пропанолі, або 0,50–1,50 мг розчину цефтриаксону натрієвої солі у ДМФА, що містить 8% води, або 1,00–1,60 мг розчину цефазоліну натрієвої солі у *n*-пропанолі вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають 1,50 мл 0,1% розчину *n*-НТФ в *n*-пропанолі; 1,00 мл 0,1% розчину *n*-НТФ в ДМФА, 2,00 мл 0,1% розчину *n*-НТХ в *n*-пропанолі. До реакційної суміші у випадку цефалексину додають 0,1 мл 0,5М розчину NaOH, у випадку цефазоліну натрієвої солі – 0,1 мл 2М розчину NaOH та стабілізують за допомогою 2М розчину HCl: 0,1 мл та 0,2 мл відповідно. Отримані розчини доводять *n*-пропанолом до позначки. У випадку цефтриаксону натрієвої солі реакційну суміш нагрівають протягом 10 хв на водяній бані та доводять ДМФА до позначки. Оптичну густину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за довжини хвилі 480 нм для цефалексину, 467 нм для цефтриаксону натрієвої солі та 487 нм для цефазоліну натрієвої солі. Як розчини порівняння використовують 0,014% розчин ФСЗ цефалексину в *n*-пропанолі, 0,130% розчин ФСЗ цефазоліну натрієвої солі в *n*-пропанолі та 0,100% розчин ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі в ДМФА, що містить 8% води.

*Визначення цефалексину, цефазоліну натрієвої солі та цефтриаксону натрієвої солі в лікарських формах*

Точну наважку (г або мл) лікарського препарату (капсули, порошки для приготування ін'єкційних розчинів) з відповідним вмістом лікарської речовини вносять у мірну колбу і розчиняють у *n*-пропанолі або ДМФА

(табл. 1), доводять до позначки розчинником, ретельно перемішують. Аналізуючи порошки для приготування суспензій, спочатку готують суспензію, а потім беруть наважку (табл. 1). Аліквотну частину отриманого розчину аналізують за загальною методикою кількісного визначення. Паралельно проводять дослід з розчином порівняння. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за типовою формулою.

*Визначення потенціалу напієхвилі*

Досліджувані субстанції (0,02% водні розчини) підлягали анодному окисненню в межах потенціалу від 0 до 1,5 В. Вольтамперограми лікарських речовин реєстрували зі швидкістю 10 мВ/с.

*Розрахунок квантово-хімічних параметрів*

У якості методу для розрахунку квантово-хімічних параметрів застосовували теорію функціоналу густини DFT. Оптимізацію геометрії для досліджуваних молекул обчислювали за допомогою програми Gaussian 03W [15]. При цьому використовували гібридний 3-параметричний функціонал Becke та обмінно-кореляційний функціонал Lee-Young-Parr (B3LYP/6-31G(d,p)), що передбачає застосування валентно-розщепленого базису з поляризаційними орбіталями – *d*-орбіталей для *p*-елементів та *p*-орбіталей для атомів гідрогену [16,17].

**Результати та їх обговорення**

*Вибір оптимальних умов перебігу реакції солей тетразолію з цефалоспориновими антибіотиками*

Для розробки способів кількісного визначення лікарських речовин на основі їх реакцій з солями тетразолію вивчали фактори, що впливають на характер спектра поглинання та повноту утворення продуктів реакції (величину оптичної густини), зокрема природа розчинника, кількість і порядок додавання реагентів, рН реакційної суміші, час перебігу реакції та стійкість продуктів реакції з часом.

Експериментально встановлено, що оптимальним розчинником для перебігу реакції цефалексину та цефазоліну натрієвої солі з солями тетразолію є *n*-пропанол. У випадку натрієвих солей цефтриаксону, цефуроксиму та цефотаксиму, що погано розчинні або не розчинні

Таблиця 1

**Умови кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських препаратів**

Лікарський препарат	Наважка	Розчинник	Ємність мірної колби для розчинення	Об'єм розчину для аналізу
За реакцією з <i>n</i> -НТФ				
Капсули цефалексину	0,0193-0,0481 г	<i>n</i> -пропанол*	100,0	0,50 мл
«Лексин 250»	т.н. ~0,5 мл	<i>n</i> -пропанол*	50,00	5,00 мл
«Лексин 125»	т.н. ~0,4 мл	<i>n</i> -пропанол*	50,00	0,50 мл
«Цефтриаксон» 0,5г	0,05-0,15 г	ДМФА*	100,0	1,00 мл
«Цефтриаксон» 1,0г	0,05-0,15 г	ДМФА*	100,0	1,00 мл
За реакцією з <i>n</i> -НТХ				
«Цефазолін» 0,5г	0,100-0,160 г	<i>n</i> -пропанол*	100,0	1,00 мл
«Цефазолін» 1,0г	0,100-0,160 г	<i>n</i> -пропанол*	100,0	1,00 мл

Примітки: \* – розчиняють при нагріванні.

у *n*-пропанолі, реакцію відновлення солей тетразолію проводили у середовищі вода – *n*-пропанол. Наявність води в спиртовому реакційному середовищі, навіть у незначній кількості, уповільнювала реакцію та знижувала чутливість (рис. 1).

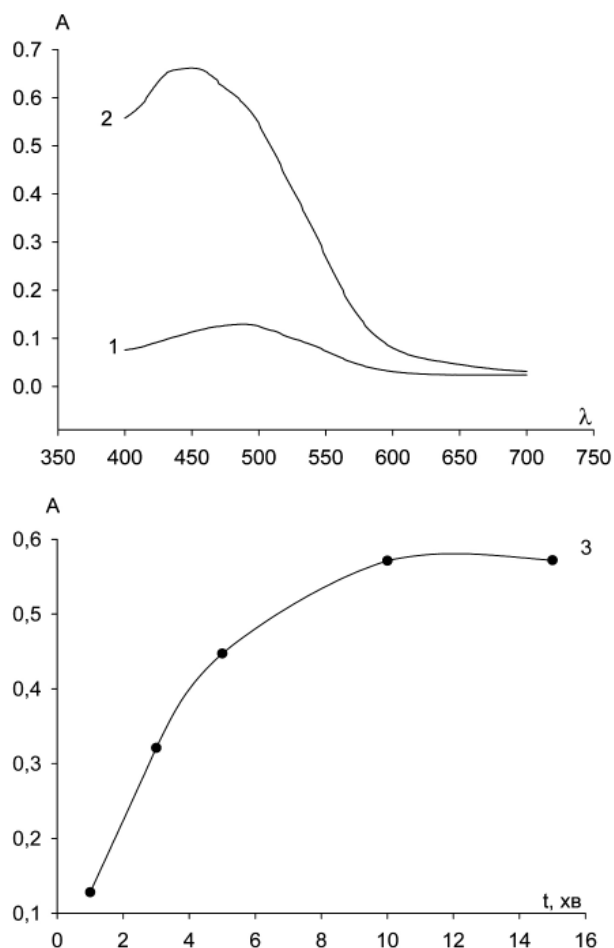


Рис. 1. Спектри поглинання продуктів реакції цефтриаксону натрієвої солі з *n*-НТФ у середовищі вода – *n*-пропанол (1) та вода – ДМФА (2). Залежність оптичної густини від часу нагрівання (3).

Значно кращі результати отримано при застосуванні середовища вода – ДМФА та нагріванні на водяній бані. Оптимальний час нагрівання (10 хв) встановлювали експериментально за максимальною оптичною густиною (рис. 1).

У випадку застосування в якості розчинника *n*-пропанолу виникала необхідність створювати лужну реакцію середовища.

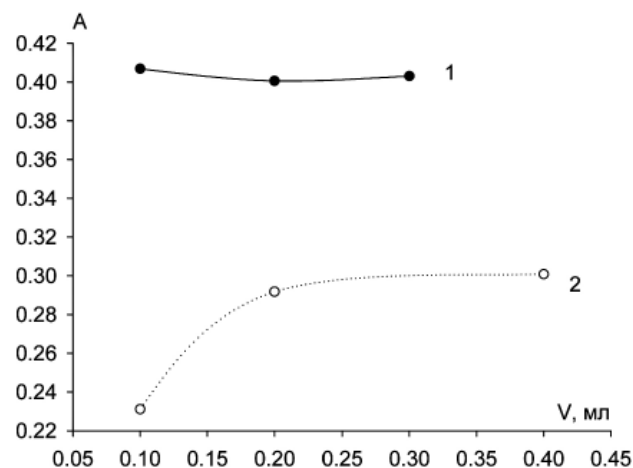


Рис. 2. Графіки залежності величини оптичної густини продуктів реакції цефалексину з *n*-НТФ від кількості водного розчину NaOH: 1 – 0,5 М, 2 – 0,1 М.

Як видно з рис. 2, максимальне значення оптичної густини у випадку цефалексину спостерігається при додаванні 0,10 мл 0,5 М розчину NaOH, що відповідає рН 11,7. Використання концентрованішого лугу не призвело до збільшення оптичної густини. При використанні більш розведеного розчину NaOH (0,1 М) отримували продукт з майже вдвічі меншою величиною оптичної густини. Отже, наявність води в реакційній суміші уповільнює перебіг реакції та знижує величину оптичної густини, тому оптимальним є використання невеликої кількості, але більш концентрованого водного лугу.

Аналогічні результати отримано для інших цефалоспоринів.

Таблиця 2

**Оптимальні умови перебігу реакції та аналітичні показники чутливості реакцій *n*-НТХ та *n*-НТФ з цефалексином (I), натрієвими солями цефазоліну (II), цефтриаксону (III), цефуроксиму (IV), цефотаксиму (V)**

Параметр	<i>n</i> -НТХ					<i>n</i> -НТФ				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
$\lambda_{\text{max}}$ , нм	486	487	449	480	488	480	483	467	480	481
Реагент (0,1%), мл	5,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,50	2,00	1,00	2,00	2,00
Розчинник	<i>n</i> -проп.	ДМФА	ДМФА	ДМФА	<i>n</i> -проп.	<i>n</i> -проп.	<i>n</i> -проп.	ДМФА	<i>n</i> -проп.	<i>n</i> -проп.
NaOH, мл	0,10 2М	-	-	-	0,10 0,5М	0,10 0,5М	0,10 0,5М	-	0,10 0,1М	0,10 0,5М
HCl, мл	0,20 2М	-	-	-	0,10 2М	0,10 2М	0,10 2М	-	0,10 0,1М	0,10 2М
Час, хв	-	10	10	10	5	5	-	10	5	5
Температура, °С	25	100*	100*	100*	25	25	25	100*	25	25
$\epsilon$	$2,6 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^4$	$9,1 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^3$	$6,8 \cdot 10^3$	$3,7 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^3$
$C_{\text{min}}$ , мкг/мл	0,67	2,32	3,67	5,17	3,52	0,46	2,04	3,08	10,1	5,32

Примітка: \* – реакційну суміш нагрівають на водяній бані.

Необхідну кількість реагенту встановлювали за максимальною величиною оптичної густини продуктів реакції. Оптимальним було використання 0,1% розчинів *n*-НТХ та *n*-НТФ у кількості 1,00–5,00 мл.

Для стабілізації оптичної густини отриманих продуктів взаємодії цефалоспоринових антибіотиків з солями тетразолію додавали водний розчин НСІ, який, нейтралізуючи надлишок NaOH, запобігав подальшому перебігу можливих побічних реакцій. Продукт реакції цефтриаксону натрієвої солі з *n*-НТФ, що утворювався в середовищі вода – ДМФА, не потребував стабілізації.

У випадку деяких лікарських речовин, зокрема цефалексину, цефуроксиму натрієвої солі, цефотаксиму натрієвої солі, реакція відновлення солей тетразолію перебігала у часі, тому встановлювали оптимальний час витримки розчинів після додавання луку.

Експериментально встановлені оптимальні умови проведення реакцій для кожної з досліджуваних сполук з *n*-НТХ та *n*-НТФ наведено у таблиці 2.

Розраховані значення молярних коефіцієнтів абсорбції та відкривальних мінімумів свідчать про високу чутливість реакцій солей тетразолію з досліджуваними лікарськими речовинами (табл. 2).

Експериментально встановлені оптимальні умови ре-

акції солей тетразолію (*n*-НТХ, *n*-НТФ) з цефалексином, цефазоліну натрієвою сіллю та цефтриаксону натрієвою сіллю покладено в основу розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення цих речовин у складі лікарських препаратів.

*Визначення основних валідаційних характеристик*

*Лінійність* визначали у межах концентрацій, у яких спостерігають підпорядкування закону Бера. Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення стандартного розчину і визначали за наведеною загальною методикою. Виходячи з отриманих даних, будували графік залежності абсорбції від концентрації досліджуваної речовини та розраховували показники лінійної залежності (табл. 3).

Отримані згідно ДФУ числові показники лінійної залежності свідчать, що виконуються усі вимоги щодо параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методик підтверджується в обраних діапазонах концентрацій.

*Прецизійність* методик визначали для кожної лікарської форми на рівні збіжності. Для цього в кожному випадку проводили 9 паралельних визначень (3 наважки, 3 повтори), а за результатами розраховували метрологічні характеристики (табл. 4).

Таблиця 3

Числові показники лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
Цефалексин			
$b \pm (s_b)$	1,170 ± (0,01880)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,01400 ± (0,01100)	$a \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,03501$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	1,022	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	відповідає
Цефтриаксону натрієва сіль			
$b \pm (s_b)$	0,1731 ± (0,002900)	–	–
$a \pm (s_a)$	-0,00170 ± (0,01200)	$a \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,03816$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	1,356	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	відповідає
$r$	0,9996	$\geq 0,9994$	відповідає
Цефазоліну натрієва сіль			
$b \pm (s_b)$	0,1670 ± (0,002900)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0063 ± (0,01550)	$a \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,04929$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,6103	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	відповідає
$r$	0,9995	$\geq 0,9969$	відповідає

Таблиця 4

Визначення збіжності результатів кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у готових лікарських формах (n=9, p=0,95)

Лікарська форма	Вміст	Метрологічні характеристики					
		$\bar{x}$	S	RSD	$\Delta_{x,r}$	$\Delta_{\bar{x}}$	$\Delta_{AS}\%$
За реакцією з <i>n</i> -НТФ							
Капсули цефалексину	0,25	0,247	$3,09 \cdot 10^{-3}$	1,25	2,32	0,961	2,80
«Лексин 250»	0,25г/5мл	0,249	$4,15 \cdot 10^{-3}$	1,67	3,11	1,28	4,80
«Лексин 125»	0,125г/5мл	0,110	$2,18 \cdot 10^{-3}$	1,99	3,70	1,67	4,80
«Цефтриаксон» 0,5 г	0,5г	0,511	$8,17 \cdot 10^{-3}$	1,60	2,98	1,23	3,20
«Цефтриаксон» 1,0 г	1,0г	1,04	0,0148	1,42	2,64	1,09	3,20
За реакцією з <i>n</i> -НТХ							
«Цефазолін» 0,5 г	0,5г	0,502	$8,05 \cdot 10^{-3}$	1,60	2,98	1,23	3,20
«Цефазолін» 1,0 г	1,0г	0,989	0,0155	1,57	2,92	1,21	3,20

Таблиця 5

**Визначення правильності методик із застосуванням модельних сумішей**

Модельні суміші	$\bar{Z}$	RSD	$\Delta_z$	$ \bar{Z} - 100 $	$0,32 \cdot \Delta_{As}$
«Цефазолін» 0,5 г	100,0	1,39	1,07	0	1,024
«Цефазолін» 1,0 г	99,71	1,07	0,824	0,29	1,024
«Цефтриаксон» 0,5 г	100,4	0,973	0,750	0,4	1,024
«Цефтриаксон» 1,0 г	100,1	1,06	0,817	0,1	1,024

Таблиця 6

**Визначення правильності методом домішок**

Препарат	Взято, мг/100 мл	Домішка, мг/100 мл	Знайдено*, мг/100 мл	Z'	$\bar{Z} \pm \Delta_z$	$ \bar{Z} - T $
«Лексин-250»	0,400	0,224	0,621	100,2	99,47±0,715	0,530
	0,400	0,336	0,759	103,1		
	0,400	0,360	0,728	95,79		
«Лексин-125»	0,352	0,360	0,712	100,0	99,79±0,493	0,21
	0,352	0,224	0,573	99,48		
	0,352	0,336	0,687	99,85		
Капсули цефалексину	0,360	0,336	0,697	99,86	100,9±0,932	0,9
	0,360	0,224	0,591	101,2		
	0,360	0,360	0,731	101,5		

Примітка: \* – середнє для 3 визначень.

Встановлено, що у всіх випадках односторонній довірчий інтервал  $\Delta_x$ , не перевищує максимально допустиму невизначеність аналізу, тому методики є точними на рівні збіжності.

Результати визначень можна вважати *правильними*, якщо систематична похибка статистично не відрізняється від нуля, тобто справжнє значення величини не виходить за межі встановленого довірчого інтервалу.

Для таких лікарських засобів, як «Цефазолін» 0,5 г, «Цефазолін» 1,0 г, «Цефтриаксон» 0,5 г, «Цефтриаксон» 1,0 г готували по 3 модельні суміші, тричі проводили визначення з кожною з модельних сумішей (всього 9). Для порошків для приготування суспензій «Лексин-250» та «Лексин-125», капсул цефалексину при визначенні правильності застосовували метод добавок. Для цього пробу розділяли на 3 рівні частини, до кожної додавали різні кількості розчину порівняння компонента, що визначався, та аналізували тричі. Експериментально отримані значення кількості діючої речовини («знайдено») виражали у відсотках (Z) від доданої кількості, розраховували середнє  $\bar{Z}$  та тестували статистично відносно теоретичного значення 100% (табл. 5, 6).

Оскільки у всіх випадках  $|\bar{Z} - 100| \leq \Delta_z$ , тобто 95% довірчий інтервал  $\bar{Z}$  включає теоретичне значення 100%, різниця  $|\bar{Z} - 100|$  є статистично незначущою та виключає наявність систематичної похибки.

*Взаємозв'язок між структурою досліджуваних сполук та їх фізико-хімічними властивостями*

При виборі лікарських речовин, що можуть бути визначені за реакцією з солями тетразолію, враховували, що позитивну реакцію мають давати сполуки, що виявляють відновні властивості, зокрема  $\beta$ -лактамі антибіотики (пеніциліни та цефалоспорины). Однак антибіотики пеніцилінового ряду, на відміну від цефалоспоринових, не вступали в реакцію з солями тетразолію. Для пояснення отриманих результатів здійснено додаткові дослідження відновних властивостей цих сполук за допомогою методу вольтамперометрії.

Отримані значення потенціалів напівхвиль для пеніцилінів і цефалоспоринових були дуже близькими, що свідчить про приблизно рівні відновні властивості (табл. 7). Отже, відсутність реакції солей тетразолію з пеніцилінами не може бути пояснена різною відновною здатністю. Оскільки окислення цефалоспоринових і пеніцилінових антибіотиків має перебігати за гетероатомом сірки дигідротіазінового чи тіазолідинового кільця, фактором, що, на нашу думку, значно впливає на перебіг даної реакції, є стеричні утруднення в молекулах досліджуваних сполук. Зокрема, наявність у антибіотиків пеніцилінового ряду двох метильних груп у 2 положенні запобігає окисленню тіазолідинової сірки.

Таблиця 7

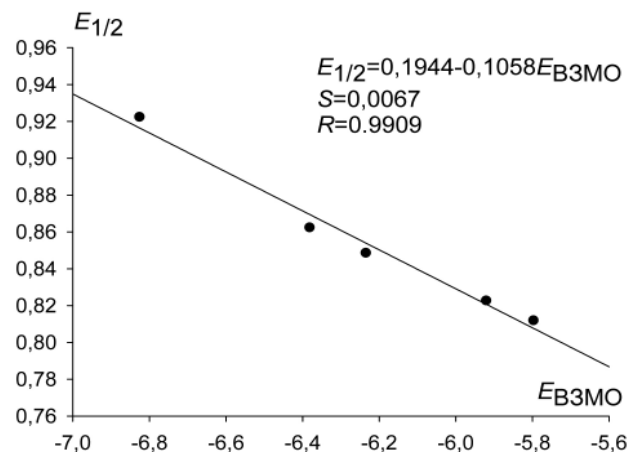
**Значення потенціалів напівхвиль  $E_{1/2}$  похідних пеніциліну та цефалоспоринових**

Сполука	$E_{1/2}$	Сполука	$E_{1/2}$
Ампіцилін	0,8317	Цефтриаксону натрієва сіль	0,8487
Амоксицилін	0,8784	Цефуроксиму натрієва сіль	0,8120
Цефалексин	0,8625	Цефотаксиму натрієва сіль	0,8228
Цефазоліну натрієва сіль	0,9225		

Надалі досліджено зв'язок між реакційною здатністю досліджуваних лікарських речовин та їх структурними характеристиками, отриманими на основі квантово-хімічних розрахунків з використанням програми Gaussian 03W, метод V3LYP/6-31G(d,p).

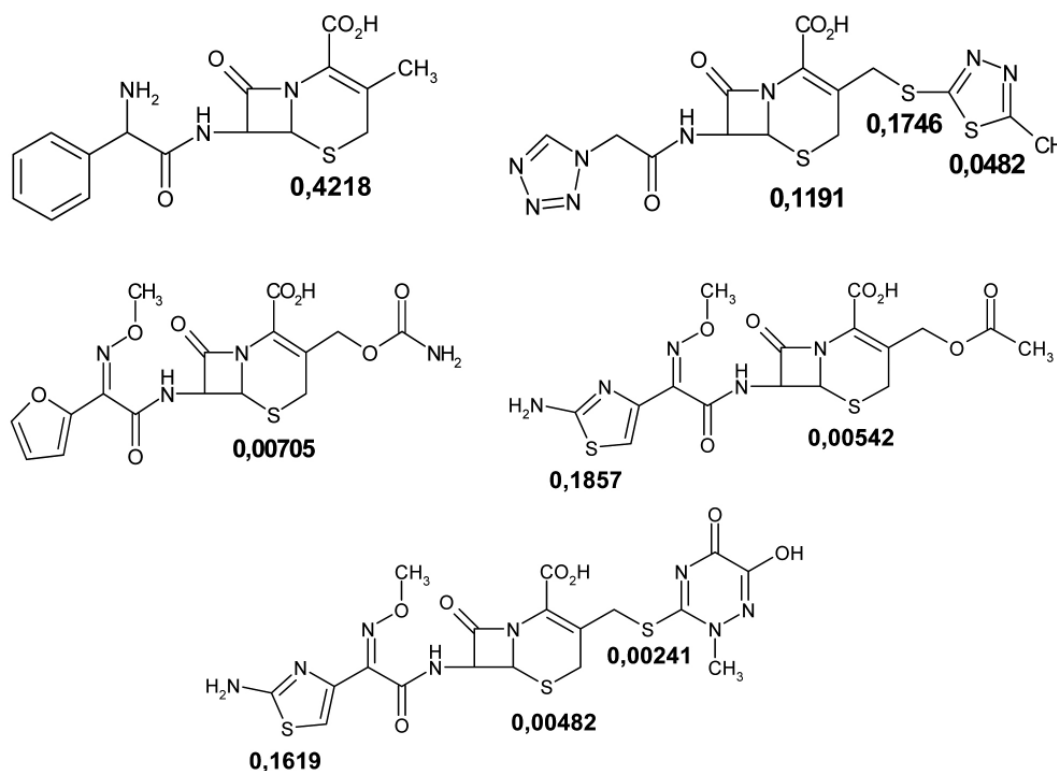
Серед розрахункових параметрів здатність речовини окислюватись характеризує енергія ВЗМО. У якості експериментального показника, що безпосередньо характеризує відновні властивості, використано потенціал напівхвилі. Так, отримана кореляційна залежність між полярографічно встановленою величиною  $E_{1/2}$  та розрахунковою  $E_{ВЗМО}$  в ряду цефалоспоринів характеризувалась коефіцієнтами кореляції  $R$  0,9853, що свідчить про наявність лінійної залежності між досліджуваними величинами. Відповідну регресійну пряму та рівняння лінійної регресії наведено на *рис. 3*.

Реакційну здатність досліджуваних речовин крім  $E_{ВЗМО}$  можуть характеризувати такі розрахункові індекси, як величина енергетичної щілини  $E_{ВЗМО}-E_{НВМО}$ , жорсткість  $\eta$  (характеризує термодинамічну стабільність молекули), електронегативність  $\chi$  (*табл. 8*), а також локальні дескриптори – орбітальні коефіцієнти  $f$  (показують розподіл молекулярних орбіталей по атомах у молекулі й,



*Рис. 3.* Регресійна пряма залежності потенціалу напівхвилі ( $E_{1/2}$ ) від енергії ВЗМО ( $E_{ВЗМО}$ ) в ряду цефалоспоринів.

у такий спосіб, визначають найімовірніший напрямок реакції). Оскільки взаємодія солей тетразолію з досліджуваними сполуками може перебігати за сіркою дигідротіазинового циклу або гетерилтіометильної групи у положенні 3, враховано орбітальні коефіцієнти саме цих атомів (*рис. 4*).



*Рис. 4.* Значення орбітальних коефіцієнтів на атомах сірки деяких цефалоспоринових антибіотиків.

*Таблиця 8*

**Глобальні індекси реакційної здатності в ряду цефалоспоринів**

	$E_{ВЗМО}$ , eV	$E_{НВМО}$ , eV	$\Delta E$ , eV	$\eta$	$\chi$
Цефалексин	-6,3808	-1,7132	4,6676	4,6676	4,047
Цефазоліну натрієва сіль	-6,8260	-2,4289	4,3970	4,3971	4,6245
Цефтриаксону натрієва сіль	-6,2352	-2,0735	4,1617	4,1617	4,1544
Цефуросиму натрієва сіль	-5,7977	-1,9350	3,8627	4,0077	3,9171
Цефотаксиму натрієва сіль	-5,9209	-1,9132	4,0077	3,8627	3,8664

Таблиця 9

Кореляційна матриця індексів реакційної здатності для цефалоспоринів

	$\epsilon$ (n-НТХ)	$\epsilon$ (n-НТФ)	$E_{\text{ВЗМО}}$	$\Delta E$	$\eta$	$\chi$	$fS_{\text{max}}^*$	$fS_{\text{дигідротіаз.}}^{**}$
$\epsilon$ (n-НТХ)	1							
$\epsilon$ (n-НТФ)	0,9961	1						
$E_{\text{ВЗМО}}$	-0,4536	-0,4442	1					
$\Delta E$	0,9255	0,9172	-0,7569	1				
$\eta$	0,8812	0,9000	-0,7225	0,9484	1			
$\chi$	0,1045	0,1064	-0,9268	0,4681	0,4872	1		
$fS_{\text{max}}^*$	0,9550	0,9264	-0,4394	0,8906	0,7540	0,06991	1	
$fS_{\text{дигідротіаз.}}^{**}$	0,9681	0,9710	-0,4401	0,8967	0,8981	0,1181	0,8813	1

Примітка: \* – максимальний орбітальний коефіцієнт на атомі сірки в молекулі; \*\* – орбітальний коефіцієнт на атомі дигідротіазинової сірки.

У реакціях з солями тетразолію показником, що характеризує реакційну здатність досліджуваних сполук, може бути значення молярного показника поглинання ( $\epsilon$ ). Для виявлення кореляційних взаємозв'язків між отриманими індексами реакційної здатності та молярним показником поглинання розраховано кореляційну матрицю (табл. 9).

Кореляційний аналіз дозволив виявити наявність лінійної залежності між молярними показниками поглинання цефалоспоринів за реакцією з n-НТХ і n-НТФ та енергетичною щільністю (табл. 9).

Однак характер залежності є зворотнім, тобто термодинамічно стійкіші системи виявили більшу активність відносно до солей тетразолію. Надалі виявилось, що у найбільш стабільних молекул, зокрема цефалексину та цефазоліну, молекулярна орбіталь сконцентрована на атомах дигідротіазинової сірки чи гетерилтіометильної групи, що й зумовило вищі значення молярної абсорбції. У випадку цефтриаксону та цефотаксиму порівняно високі орбітальні коефіцієнти виявлено на атомі сірки тіазольного циклу, що має низку реакційну здатність внаслідок його ароматичності. Отже, лінійну залежність спостерігали між показником чутливості реакції цефалоспоринів з солями тетразолію та локальними орбітальними коефіцієнтами дигідротіазинової сірки, а

також максимальними орбітальними коефіцієнтами на атомі сірки в молекулі:  $\epsilon=87232 \cdot f(S_{\text{max}}) - 3271$ ,  $R=0,9264$ ,  $S=6080,7$  та  $\epsilon=75358 \cdot f(S_{\text{дигідротіаз.}}) + 4910$ ,  $R=0,9710$ ,  $S=3865$  – за реакцією з n-НТФ;  $\epsilon=53536,5 \cdot f(S_{\text{max}}) + 1062,5$ ,  $R=0,9439$ ,  $S=3211,6$  та  $\epsilon=45568 \cdot f(S_{\text{дигідротіаз.}}) + 6153$ ,  $R=0,9747$ ,  $S=2172$  – за реакцією з n-НТХ.

Отже, цефалоспоринові антибіотики мають дуже різну реакційну здатність, оскільки значно різняться за своїми замісниками. Вирішальну роль для прогнозування реакційної здатності в цьому випадку відіграють орбітальні коефіцієнти внаслідок різного розподілу ВЗМО по атомах.

**Висновки**

Визначено оптимальні умови перебігу реакцій нітропохідних солей тетразолію з цефалоспориновими антибіотиками та розроблено доступні, чутливі, валідні методики аналізу деяких цефалоспоринів у складі сучасних лікарських препаратів. На основі результатів полярографічних досліджень і квантово-хімічних розрахунків встановлено основні закономірності між будовою цефалоспоринових антибіотиків, їх відновними властивостями та здатністю вступати в реакцію з солями тетразолію. Показано, що на реакційну здатність досліджуваних сполук суттєвий вплив мають стеричні фактори.

**Список літератури**

1. El-Shaboury S.R. Analysis of cephalosporin antibiotics / El-Shaboury S.R., Saleh G.A., Mohamed F.A., Rageh A.H. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2007. – Vol. 45, №1. – P. 1–19.
2. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.
3. United States Pharmacopeia 26. – USP Convention Inc. – Rockville, 2003.
4. British Pharmacopeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2000.
5. Salem H. Colourimetric and AAS determination of cephalosporins using Reineck's salt / Salem H., Askal H. // J. of Pharm. and Biom.l Anal. – 2002. – Vol. 29, №1–2. – P. 347–354.
6. Use of charge-transfer complexation in the spectrophotometric analysis of certain cephalosporins / Saleh G.A., Askal H.F., Radwan M.F., Omar M. A. // Talanta. – 2001. – №54. – P. 1205–1215.
7. Salem H. Selective spectrophotometric determination of phenolic  $\beta$ -lactam antibiotics in pure forms and in their pharmaceutical formulations / Salem H. // Anal. Chim. Acta. – 2004. – Vol. 515. – P. 333–341.
8. Kinetic spectrophotometric determination of certain cephalosporins using oxidized quercetin reagent / Saleh G. A., El-Shaboury S. R., Mohamed F.A., Rageh A.H. // Spectrochim. Acta A. – 2009. Vol. 73, №5. – P. 946–954.
9. Salem H. Selective spectrophotometric determination of phenolic  $\beta$ -lactam antibiotics / Salem H., Saleh G.A. // J. of Pharm. and Biom.l Anal. – 2002. – Vol. 28, №6. – P. 1205–1213.



10. Spectroscopic analytical study for the charge-transfer complexation of certain cephalosporins with chloranilic acid / Saleh G.A., Askal H.F., Darwish I.A., El-Shorbagi A.N. // *Anal. Sci.* – 2003. – Vol. 19, №2. – P. 281–287.
  11. *Nineham A.W.* The chemistry of formazans and tetrazolium salts / *Nineham A.W.* // *Chem. Rev.* – 1955. – Vol. 55, №2. – P. 355–483.
  12. *Zhivich A.B.* Tetrazolium salts (review) / *Zhivich A.B., Koldobskii G.I., Ostrovskii V.A.* // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 1990. – V. 26, №12. – P. 1319–1328.
  13. *Belyakovich A.G.* Tetrazolium method for studying the catalytic properties of oxidoreductases in cellular organelles immobilized on glass surfaces / *Belyakovich A.G.* // *Anal. Biochem.* – 1983. – V. 131, №2. – P. 404–409.
  14. Colorimetric method of sequential determination of several dehydrogenases in a smear of human leukocytes // *Beliakovich A.G., Lakhina L.V., Pankratova E.V. et al.* – *Vopr. Med. Khim.* – 1987. – V. 33, №3. – P. 118–120.
  15. Gaussian 03, Revision C.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
  16. *Lee C.* Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density / *Lee C., Yang W., Parr R.G.* // *Phys. Rev. B* – 1988. – Vol. 37, №2. – P. 785–789.
  17. *Becke A.D.* Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange / *Becke A.D.* // *J. Chem. Phys.* – 1993. – Vol. 98, № 7. – P. 5648–5652.
- 

**Відомості про авторів:**

Тарханова О.О., к. фарм. н., асистент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Постика А.М., магістрант каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Монакіна Ю.В., асистент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

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

Дочинець Д.І., к. фарм. н., доцент каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

**Адреса для листування:**

Тарханова Ольга Олександрівна. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. аналітичної хімії ЗДМУ.

Тел.: (0612) 34 21 81.

E-mail: tarkhanova@gmail.com

---

Надійшла в редакцію 29.12.2011 р.



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

## Синтез і протипухлинна активність неконденсованих систем з 2-оксоіндолюним та 4-тіазолідиноновим фрагментами в молекулах

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

**Ключові слова:** синтез, ізатин, 4-тіазолідинони, протипухлинна активність.

**Ключевые слова:** синтез, изатин, 4-тиазолидиноны, противоопухолевая активность.

**Key words:** synthesis, isatin, 4-thiazolidinones, antitumor activity.

На основі реакції *N*-алкілювання отримано групу похідних ізатину з ароматичними та гетероциклічними фрагментами для фармакологічного скринінгу на протипухлинну активність. При подальшій хімічній модифікації 2-(2,3-діксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-*N*-арил(гетерил)ацетамідів у реакції конденсації з 4-тіазолідинонами синтезовано 5-іліденопохідні 4-тіазолідинонів. Структуру синтезованих сполук підтверджено методом ПМР спектроскопії. Здійснено скринінг протипухлинної активності отриманих сполук.

На основе реакции *N*-алкилирования получена группа неконденсированных производных изатина с ароматическими и гетероциклическими фрагментами для фармакологического скрининга на противоопухолевую активность. При дальнейшей химической модификации 2-(2,3-диоксо-2,3-дигидроиндол-1-ил)-*N*-арил(гетерил)ацетамидов в реакции конденсации с 4-тиазолидинонами синтезированы 5-илиденпроизводные 4-тиазолидинонов. Структура синтезированных соединений подтверждена методом ПМР спектроскопии. Проведен скрининг противоопухолевой активности полученных веществ.

Based on the reaction of *N*-alkylation the group of non-condensed isatin derivatives with aromatic and heterocyclic fragments have been synthesized for pharmacological screening of antitumor activity. The further chemical modification of 2-(2,3-dioxo-2,3-dihydroindol-1-yl)-*N*-aryl(heteryl)acetamides in condensation reaction with 4-thiazolidinone yielded the 5-ylidene derivatives of 4-thiazolidinone. Structures of synthesized compounds were confirmed by <sup>1</sup>H NMR spectra. Antitumor activity screening was carried out.

Одним із зручних та препаративних методів хімічної модифікації 2-оксоіндолюнів з метою пошуку нових біологічно активних сполук є синтез *N*-заміщених похідних ізатину, що характеризуються противірусною [1,2], протитуберкульозною [3,4], анальгетичною [5], протипухлинною [6] діями. Водночас, поєднання індолюного фрагмента з іншими гетероциклами є перспективним напрямком сучасної медичної хімії. Так, серед неконденсованих систем, що поєднують 2-оксоіндолюний і фармакологічно привабливий тіазолідиновий фрагменти, ідентифіковані сполуки з протипухлинною [7], антимікробною [8] та антивірусною [9] діями.

### Мета роботи

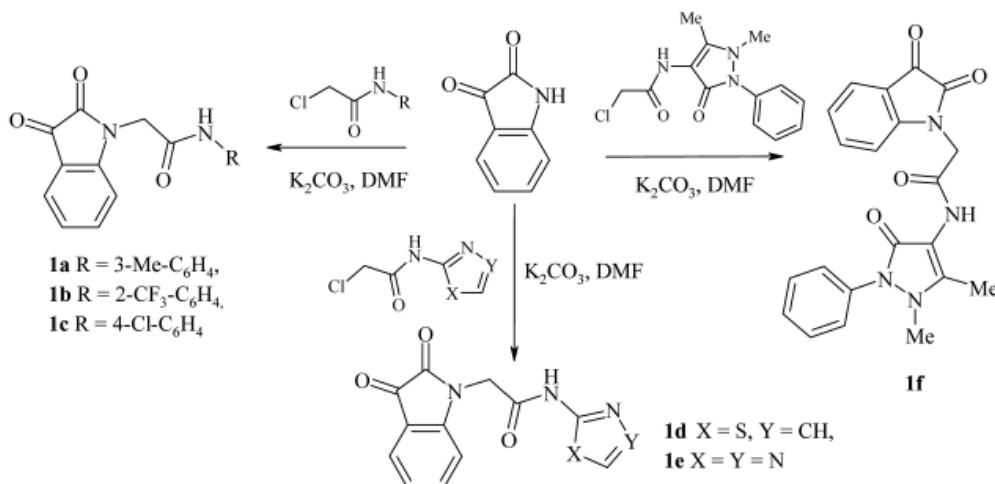
Синтез *N*-заміщених похідних ізатину та неконденсованих систем з 4-тіазолідиноновим і 2-оксоіндолюним

фрагментами в молекулах як потенційних протипухлинних агентів.

### Матеріали і методи дослідження

Синтетичні дослідження проведені з використанням реактивів компанії «Merck» (Дармштадт, Німеччина) та «Sigma-Aldrich» (Міссурі, США). Структуру і склад ключових синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом і спектроскопією ПМР (О.М. Василенко, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України). Протипухлинну активність синтезованих сполук вивчали методом вискоєфективного біологічного скринінгу згідно до міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США – DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (Бетезда, Меріленд, США) [10–13].

Схема 1



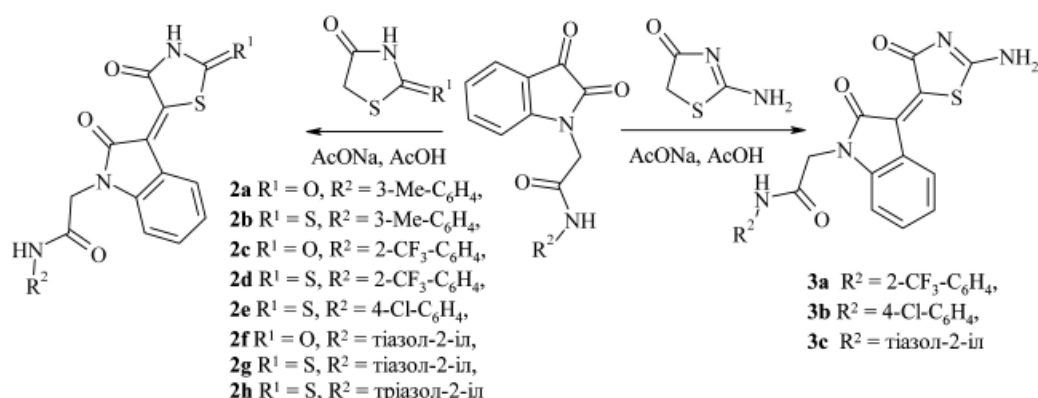


Схема 2

### Результати та їх обговорення

Вихідним реагентом для здійснення запланованих досліджень обрано ізатин, що легко вступає в реакцію *N*-алкілювання з 2-хлоро-*N*-арил(гетерил)ацетамідами з утворенням відповідних 2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-*N*-арил(гетерил)ацетамідів **1a-1f** (схема 1).

Для отримання неконденсованих похідних 4-тіазолідинону з 2-оксоіндолюним фрагментом у молекулах 2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-*N*-арил(гетерил)ацетаміди **1a-1f** використано в якості карбонільних сполук у взаємодії з 2,4-тіазолідиндіоном, 2-тіоксо-4-

тіазолідиноном і псевдотіогідантоїном в умовах реакції Кньюенагеля (середовище – оцтова кислота, каталізатор – безводний ацетат натрію) (схема 2).

Структуру синтезованих сполук підтверджено методом спектроскопії ПМР. У спектрах ПМР синтезованих сполук метиленова група CH<sub>2</sub>CO утворює синглет при 4,52–5,05 та амідний протон NH-групи – синглет при 9,85–12,41 м.ч. відповідно.

Для 10 синтезованих сполук вивчали протипухлинну активність *in vitro* на 60 ліній ракових клітин, що охоплюють майже весь спектр ракових захворювань

Таблиця 1

Результати прескринінгу протипухлинної активності сполук в концентрації 10<sup>-5</sup> М

Сполука	Середня мітотична активність 60 ліній, %	Діапазон мітотичної активності 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії клітин	Мітотична активність, %
<b>1b</b>	105,25	80,32 ÷ 127,50	SNB-75 (рак ЦНС)	80,32
<b>1c</b>	102,74	84,23 ÷ 121,41	CAKI-1 (рак нирок)	80,32
<b>1d</b>	48,70	-100,0 ÷ 122,77	CCRF-CEM (лейкемія) SR (лейкемія) A549/ATCC (рак легень) HOP-62 (рак легень) HOP-92 (рак легень) NCI-H522 (рак легень) HT29 (раку товстої кишки) KM12 (раку товстої кишки) SF-295 (рак ЦНС) LOX IMVI (меланома) MALME-3M (меланома) IGROV1 (рак яєчників) OVCAR-3 (рак яєчників) 786-0 (рак нирок) CAKI-1 (рак нирок) UO-31 (рак нирок) PC-3 (рак простати)	-46,39 -26,00 -28,09 -58,73 -72,40 -85,44 -34,83 -91,30 -39,09 -100,0 -32,94 -46,46 0,05 -96,66 9,66 -76,13 -58,54
<b>1e</b>	94,07	69,06 ÷ 122,45	LOX IMVI (меланома)	69,06
<b>1f</b>	107,74	69,12 ÷ 168,54	HOP-92 (рак легень)	69,12
<b>2d</b>	93,54	59,43 ÷ 127,35	HOP-92 (рак легень)	59,43
<b>2h</b>	97,88	-67,77 ÷ 151,16	CCRF-CEM (лейкемія) HL-60(TB) (лейкемія) SR (лейкемія)	-67,77 -13,91 -3,31
<b>3a</b>	58,63	-60,82 ÷ 112,35	SR (лейкемія) NCI-H460 (рак легень) HCT-116 (раку товстої кишки) KM-12 (раку товстої кишки) SW-620 (раку товстої кишки) SF-268 (рак ЦНС) U251 (рак ЦНС) MALME-3M (меланома) MDA-MB-435 (меланома) OVCAR-3 (рак яєчників) OVCAR-8 (рак яєчників) PC-3 (рак простати) MCF-7 (рак молочної залози) T-47D (рак молочної залози)	7,09 -60,82 10,64 14,97 -37,70 14,64 9,52 21,26 -12,43 15,63 7,51 12,88 23,41 -15,32
<b>3b</b>	100,72	68,82 ÷ 120,29	SNB-75 (рак ЦНС)	68,82

людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланоми, раку простати та ЦНС) за умови дії речовини в концентрації  $10^{-5}$  моль/л, в результаті якого визначали відсоток росту клітин ліній раку у порівнянні з контролем. За результатами прескринінгу тестовані сполуки виявили неоднозначну протипухлинну активність з середніми значеннями відсотків росту 48,70–107,74%. Необхідно зазначити високу селективність дії сполуки **2h** на окремі лінії лейкемії (табл. 1).

Аналізуючи отримані результати в контексті «структура-протипухлинна активність», можна відзначити, що введення в 1*N*-положення ізатину тiazольного фрагменту (**1d**) сприяє посиленню цитостатичної дії на відміну від арильних (**1b**, **1c**), тiazольного (**1e**) чи піразолонового (**1f**) циклів. Водночас, ефективною виявилась хімічна модифікація сполуки **1b** в реакції з псевдотіогідантоном, про що свідчать високі показники протипухлинної активності сполуки **3a** в порівнянні з її хімічним прекурсором (**1b**).

За результатами прескринінгу сполуки **1d** та **3a**, що проявили цитостатичний ефект на більшості пухлинних ліній, відібрані для ґрунтового *in vitro* скринінгу, що полягав у вивченні активності речовин у 5 концентраціях при 10-кратному розведенні.

Проведені ґрунтовні дослідження протипухлинної активності *in vitro* дозволили ідентифікувати помітний цитостатичний ефект ( $pGI_{50} > 5,00$ ) сполуки **1d** на 16 з

56 досліджуваних клітинних ліній і особливо сполуки **3a**, що характеризується виразною активністю на 28 з 57 ліній. Особливо заслуговує на увагу вплив **1d** на пухлинну лінію LOX IMVI (меланома) та сполуки **3a** на лінію SR (лейкемія) з високими показниками ефективного інгібування в мікромольних концентраціях ( $pGI_{50} > 6,00$ ) (табл. 2).

*Експериментальна частина.* Спектри ПМР вимірювали на приладі «Varian VXR-400», розчинник – DMSO-D<sub>6</sub>, стандарт – тетраметилсилан. Дані елементного аналізу на вміст азоту і сірки відповідають вирахуванню ( $\pm 0,3\%$ ).

*Загальна методика синтезу 2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-*N*-арил(гетерил)ацетамідів (1a-1f).* До суміші 0,005 моль ізатину, 0,006 моль відповідного хлороацетаміду та 0,01 моль карбонату калію додають 30 мл ДМФА та перемішують за кімнатної температури протягом 12 год. Реакційну суміш виливають на воду. Осад, що утворився, відфільтровують і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:2).

*2-(2,3-Діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-*N*-(3-метилфеніл)ацетамід (1a).* Вихід 84%. Т.топл. 242–244 °С.

*2-(2,3-Діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-*N*-(2-трифторометилфеніл)ацетамід (1b).* Вихід 81%. Т.топл. 224–225 °С. ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.ч.: 4,58с (2H, CH<sub>2</sub>), 7,08д (1H, J = 7,9 Гц, ізатин), 7,17т (1H, J = 7,5 Гц, ізатин), 7,42–7,50м (2H, аром.), 7,60д (1H, J = 7,3 Гц, ізатин), 7,69–7,75м (3H, аром.), 10,05с (1H, NH).

Таблиця 2

Протипухлинна активність сполук **1b** та **3a** (результати ґрунтового *in vitro* скринінгу ( $pGI_{50} > 5$ ))

Захворювання	<b>1d</b>			<b>3a</b>		
	Клітинна лінія	$pGI_{50}$	$pTGI$	Клітинна лінія	$pGI_{50}$	$pTGI$
Лейкемія	CCRF-CEM HL-60(TB)	5,71	5,29	K-562 SR	5,19	4,00
		5,77	5,42		<b>6,23</b>	<b>5,31</b>
Рак легень	EKVX HOP-92 NCI-H522	5,43	4,00	A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-522 NCI-H460	5,62	4,94
		5,65	5,32		5,44	4,82
		5,86	5,48		5,45	4,69
					5,35	4,70
				5,96	5,42	
Рак кишечника	HT-29 KM12	5,27	4,00	HCC-2998 HCT-116 HCT-29 SW-620	5,14	4,00
		5,47	4,00		5,87	5,47
					5,41	4,00
					5,90	5,60
Рак ЦНС	SF-268 SF-295	5,51	5,03	SF-268 SNB-19 SNB-75 U251	5,51	4,75
		5,57	-		5,31	4,80
					5,45	4,79
					5,72	5,19
Меланома	LOX IMVI MALME-3M	6,54	5,98	MDA-MB-435 SK-MEL-28	5,87	5,34
		5,83	5,42		5,26	4,63
Рак яєчників	OVCAR-3 OVCAR-8	5,29	4,00	OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-8	5,73	5,33
		5,31	4,00		5,33	4,00
				5,78	4,99	
Рак нирок	CAKI-1 UO-31	5,08	4,35	786-0 TK-10	5,26	4,49
		5,88	5,42		5,06	4,59
Рак простати				PC-3 DU-14	5,60	4,52
					5,53	4,28
Рак молочної залози				MCF-7 MDA-MB-468 T-47D	5,69	4,77
					5,65	4,83
					5,87	5,84

2-(2,3-Діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-(4-хлорофеніл)ацетамід (**1c**). Вихід 79%. Т.топл. 274–276 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 4,52с (2H, CH<sub>2</sub>), 7,04д (1H, J = 7,9 Гц, ізатин), 7,14т (1H, J = 7,4 Гц, ізатин), 7,23д (2H, J = 8,6 Гц, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,56–7,62м (4H, аром.), 10,16с (1H, NH).

2-(2,3-Діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-тіазол-2-ілацетамід (**1d**). Вихід 81%. Т.топл. 236–238 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 5,05с (2H, CH<sub>2</sub>), 7,03д (1H, J = 7,8 Гц, ізатин), 7,14т (1H, J = 7,4 Гц, ізатин), 7,23д (1H, J = 4,8 Гц, тіазол), 7,38т (1H, J = 7,8 Гц, ізатин), 7,52д (1H, J = 4,8 Гц, тіазол), 7,58д (1H, J = 7,9 Гц, ізатин), 12,41с (1H, NH).

2-(2,3-Діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-(4H-[1,2,4]тріазол-3-іл)-ацетамід (**1e**). Вихід 72%. Т.топл. 276–278 °С.

N-(1,5-Диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1H-піразол-4-іл)-2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)ацетамід (**1f**). Вихід 75%. Т.топл. 186–188 °С.

Загальна методика синтезу 2-[2-оксо-3-(4-оксо-тіазолідин-5-ілідене)-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-арил(гетерил)ацетамідів (2a-2h, 3a-3c). Суміш 0,002 моль роданіну, 2,4-тіазолідиндіону чи псевдотіогідантоїну, 0,0022 моль відповідного N-заміщеного ізатину та 0,002 моль ацетату натрію поміщають у круглодонну колбу, додають 15 мл оцтової кислоти і кип'яють зі зворотним холодильником протягом 5 год. Після повного охолодження продукт реакції відфільтровують і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:1).

2-[3-(2,4-Діоксотіазолідин-5-ілідене)-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(3-метилфеніл)ацетамід (**2a**). Вихід 82%. Т.топл. 252–254 °С.

2-[2-Оксо-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-ілідене)-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(3-метилфеніл)ацетамід (**2b**). Вихід 74%. Т.топл. 280–282 °С.

2-[3-(2,4-Діоксотіазолідин-5-ілідене)-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(2-трифторометилфеніл)ацетамід (**2c**). Вихід 76%. Т.топл. 216–218 °С.

2-[2-Оксо-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-ілідене)-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(2-трифторометилфеніл)ацетамід (**2d**). Вихід 84%. Т.топл. 312–314 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 4,69с (2H, CH<sub>2</sub>), 7,03д (1H, J = 7,9 Гц, ізатин), 7,15т (1H, J = 7,6 Гц, ізатин), 7,46–7,53м (3H, аром.), 7,66т (1H, J = 7,8 Гц, ізатин), 7,72д (1H, J = 7,7 Гц, аром), 8,65д (1H, J = 7,7 Гц, ізатин), 9,85с (1H, NH), NH (тіазолідин) – дейтерообмін.

2-[2-Оксо-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-ілідене)-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(4-хлорометилфеніл)ацетамід (**2e**). Вихід 86%. Т.топл. 328–330 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 4,61с (2H, CH<sub>2</sub>), 6,98д (1H, J = 8,0 Гц, ізатин), 7,10т (1H, J = 7,7 Гц, ізатин), 7,23д (2H, J = 8,5 Гц, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,39т (1H, J = 7,5 Гц, ізатин), 7,58д (2H, J = 8,5 Гц, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 8,91д (1H, J = 7,6 Гц, ізатин), 10,17с (1H, NH), NH (тіазолідин) – дейтерообмін.

2-[3-(2,4-Діоксотіазолідин-5-ілідене)-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-тіазол-2-ілацетамід (**2f**). Вихід 73%. Т.топл. 298–300 °С.

2-[2-Оксо-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-ілідене)-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-тіазол-2-ілацетамід (**2e**). Вихід 78%. Т.топл. 260–262 °С.

2-[3-(2-Аміно-4-оксо-4H-тіазол-5-ілідене)-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(2-трифторометилфеніл)ацетамід (**3a**). Вихід 83%. Т.топл. 322–324 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 4,69с (2H, CH<sub>2</sub>), 7,00д (1H, J = 7,8 Гц, ізатин), 7,12т (1H, J = 7,5 Гц, ізатин), 7,41–7,53м (3H, аром.), 7,66т (1H, J = 7,5 Гц, ізатин), 7,72д (1H, J = 7,7 Гц, аром), 9,04д (1H, J = 7,6 Гц, ізатин), 9,22шс, 9,43шс (2H, NH<sub>2</sub>), 9,86с (1H, NH).

2-[3-(2-Аміно-4-оксо-4H-тіазол-5-ілідене)-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-(4-хлорофеніл)ацетамід (**3b**). Вихід 80%. Т.топл. 380–382 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 4,61с (2H, CH<sub>2</sub>), 6,93д (1H, J = 7,7 Гц, ізатин), 7,08т (1H, J = 7,4 Гц, ізатин), 7,24–7,32м (3H, аром.), 7,59д (2H, J = 8,6 Гц, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 9,08д (1H, J = 7,6 Гц, ізатин), 9,37–9,50м (2H, NH<sub>2</sub>), 10,20шс (1H, NH).

2-[3-(2-Аміно-4-оксо-4H-тіазол-5-ілідене)-2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-іл]-N-тіазол-2-ілацетамід (**3c**). Вихід 85%. Т.топл. 272–274 °С.

### Висновки

На основі реакції N-алкілювання отримано групу похідних ізатину з ароматичними та гетероциклічними фрагментами для фармакологічного скринінгу на протипухлинну активність.

Синтезовані 2-(2,3-діксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-N-арил (гетерил)ацетаміди використано в якості карбонільних сполук в умовах реакції Кньюенагеля з 4-тіазолідинонами та отримано серію 5-іліденпохідних.

За результатами вивчення протипухлинної активності синтезованих сполук ідентифіковано сполуки-хіти, що характеризуються виразним цитостатичним ефектом у мікромолярних концентраціях.

### Список літератури

1. Selective human enterovirus and rhinovirus inhibitors: An overview of capsid-binding and protease-inhibiting molecules / Shin-Ru Shih, Shu-Jen Chen, Gholam Hossein Hakimelahi [et al.] // Medicinal Research Reviews – 2004. – Vol. 24, Iss. 4. – P. 449–474.
2. Development of integrase inhibitors for treatment of AIDS: An overview / S. Dubey, Y. D. Satyanarayana, H. Lavania // Eur. J. Med. Chem. – 2007. – Vol. 42, Iss. 9. – P. 1159–1168.
3. Synthesis and structure–antituberculosis activity relationship

of 1H-indole-2,3-dione derivatives / N. Karali, A. Gürsoy, F. Kandemirli [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2007. – Vol. 15, Iss. 17. – P. 5888–5904.

4. Synthesis and antituberculosis activity of 5-methyl/trifluoromethoxy-1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazone derivatives / Ö. Güzel, N. Karali, A. Salman // Bioorg. Med. Chem. – 2008. – Vol. 16, Iss. 19. – P. 8976–8987.
5. Design and synthesis of a novel series of N-alkyl isatin acylhydrazone derivatives that act as selective cannabinoid receptor 2 agonists for the treatment of neuropathic pain / P.

- Diaz, J. Xu, F. Astruc-Diaz [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 51, Iss. 16. – P. 4932–4947.
6. Synthesis of 1-(2,6-dichlorophenyl)-3-methylene-1,3-dihydro-indol-2-one derivatives and in vitro anticancer evaluation against SW620 colon cancer cell line V. Virsodia, A. Manvar, K. Upadhyay [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44, Iss. 3. – P. 1355–1362
7. *Eshba N.H.* 5-(2-Oxo-3-indolinylidene)thiazolidine-2,4-dione-1,3-di-Mannich base derivatives: synthesis and evaluation for antileukemic activity / N.H. Eshba, H.M. Salama // *Die Pharmazie.* – 1985. – Vol. 40, Iss. 5. – P. 320–322.
8. Chemical probes of UDP-galactopyranose mutase / E.E. Carlson, J.F. May, L.L. Kiessling // *Chemistry & Biology.* – 2006. – Vol. 13, Iss. 8. – P. 825–837.
9. Quinolone 3-carboxylic acid pharmacophore: design of second generation HIV-1 integrase inhibitors / R. Dayam, L. Q. Al-Mawsawi, Z. Zawahir [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 51, Iss. 5. – P. 1136–1144.
10. *Boyd M. R.* Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen / M.R. Boyd, K.D. Paull // *Drug Development Research.* – 1995. – Vol. 34. – P. 91–109.
11. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay / M.C. Alley, D.A. Scudiero, P.A. Monks [et al.] // *Cancer Research.* – 1988. – Vol. 48. – P. 589–601.
12. *Grever M.R.* The national cancer institute: cancer drug discovery and development program / M.R. Grever, S.A. Schepartz, B.A. Chabner // *Seminars in Oncology.* – 1992. – Vol. 19, №6. – P. 622–638.
13. *Shoemaker R.H.* The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen / R. H. Shoemaker // *Nature Reviews Cancer.* – 2006. – Vol. 6. – P. 813–823.

**Відомості про авторів:**

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

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

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

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

**Адреса для листування:**

Лесик Роман Богданович. 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69, каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛМНУ ім. Данила Галицького.

Тел.: (0322) 75 59 66.

E-mail: dr\_r\_lesyk@org.lviv.net

Надійшла в редакцію 27.02.2012 р.



Lyudmyla M. Antypenko<sup>1</sup>, Sergiy I. Kovalenko<sup>1</sup>, Maryna M. Kornet<sup>2</sup>, Olexandr O. Brazhko<sup>2</sup>

## Investigation of plant growth regulation activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2-ylsulfanyl)carboxylic acids and amides on *Cucumis sativus* L. Roots

<sup>1</sup>Zaporozhye State Medical University,

<sup>2</sup>Zaporozhye National University

**Ключові слова:** *Cucumis sativus* L., рiстрегулююча активність, 2-тіо-[1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназоліни.

**Ключевые слова:** *Cucumis sativus* L., рoстрегулирующая активность, 2-тіо-[1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназоліни.

**Key words:** *Cucumis sativus* L., growth regulation activity, 2-thio-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolines.

Роботу присвячено розширенню ряду відомих регуляторів росту рослин серед похідних триазолу, зокрема ([1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназоліну-2-ілсульфаніл)карбонових кислот та амідів. Біологічну активність останніх досліджено *in vitro* на коренях *Cucumis sativus* L. Кращими стимуляторами росту виявились кислоти **3** (0,02 мг/мл) і **4** (0,5 мг/мл), перевищивши активність гібереніну.

Работа посвящена расширению известных регуляторов роста растений среди производных триазола, а именно ([1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназолін-2-ілсульфаніл)карбонових кислот и амидов. Биологическая активность последних исследована *in vitro* на корнях *Cucumis sativus* L. Лучшими стимуляторами роста оказались кислоты **3** (0,02 мг/мл) и **4** (0,5 мг/мл), превысив активность гибберенина.

The present work is dedicated to the enlargement of the known plant growth regulators among triazole derivatives, namely, ([1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназолін-2-ілсульфаніл)carboxylic acids and amides. The biological activity of the latter's was investigated *in vitro* via direct organogenesis of *Cucumis sativus* L. roots. The best growth stimulators appeared to be acid **3** (0.02 mg/mL) and acid **4** (0.5 mg/mL), exceeding the activity of gibberellines.

The chemical contamination of the fields and other components of agrolandscape increases in geometrical progression as a result of successive chemisation programs, mechanization and land-reclamation. Development and introduction of the ecologically oriented systems of management and usage of ecologically clean products are among perspective directions of modern agriculture improvement [1,2]. More than that, it is necessary to stimulate biological, biodynamic and organic low-cost adaptive systems of agriculture and ecologization in agreement to the standards of safety of IFOAM [3]. Most effective and ecologically safe application of nitric, phosphoric and potassium fertilizers is possible only in fulfilling the plants the necessary wide spectrum of other components which provide their growth without decreasing of the soil fertility, such as organic fertilizers, biologics on the basis of the useful ground microorganisms, regulators of growth and oligoelements [4].

Plant growth retardants are synthetic compounds, which are used to reduce the shoot length of plants in a desired way without changing developmental patterns or being phytotoxic [5]. The latter is achieved by reducing the cell elongation and by decreasing of the cell division rate. Considering the effect on the morphological structure of plants, growth retardants are antagonistic to gibberellines (GAs) and auxins – the plant hormones that are primarily responsible for shoot elongation. GAs are tetracyclic diterpenoid growth factors that are essential for normal growth and affect a wide variety of plant developmental processes [6,7]. In recent years, significant progress has been attained in the biochemistry of GAs biosynthesis and in the mechanisms

of their regulation. Nowadays four different types of GAs inhibitors are known: onium compounds, substances with an N-containing heterocycle, structural mimics of 2-oxoglutaric acid and 16,17-dihydro-Gas [5].

Therefore, we were interested in the second group, namely, triazole-type compounds. It is known that such GAs inhibitors: paclobutrazol, tetcyclacis, uniconazole-P, triapenthenol, block cytochrome P<sub>450</sub>-dependent monooxygenases, thereby inhibiting oxidation of entkaurene into entkaurenoic acid [8]. More than that, it is reported, that plant growth retardation can also be a side activity of some triazole-type fungicides such as triadimenol, triadimefon or ipconazole, which inhibit the oxidative demethylation in the fungal ergosterol biosynthesis path and also reduce the formation of 14-demethylatedrols in higher plants blocking the obtusifoliol 14-demethylase.

In May 2011 Germany was suffering from the 330 cases of serious infection, most of which have occurred in the north of the country. The cause has been identified as Shiga toxin-producing *Echerichia coli* O104:H4, that was firstly said to be found on Spanish *Cucumis sativus*, which is a member of the *Cucurbitaceae* plant kingdom family, and one of the widely eaten foods, especially in the hot summer months and finally – on the German bean sprouts Shiga toxin-producing *E. coli* causes: diarrhea (frequently bloody), vomiting and fever [9].

Hence, taking into account the afore-mentioned facts, we were aimed to find growth regulators with GAS-like activity among new derivatives of S-substituted 2-thio-([1,2,4]тріазоло[1,5-с]хіназоліни, namely carboxylic acids and amides *via* direct organogenesis of *Cucumis sativus* L.,

using the stem elongation assay that has been reported to be used in order to identify GA-binding activity in the soluble protein fractions of hypocotyl as well as to prevent people from other food diseases and farmers from sales loss [10–15]. It is worth mentioning, that Sulphur in the molecule of our synthesized substances plays important role for showing the antimicrobial activity, because it is known, that among active antibacterial constituents of *Allium cepa* are alkylcysteine sulfoxides and Sulphur containing  $\gamma$ -glutamic acids [16]. More than that, in our previous research investigated ([1,2,4] triazolo[1,5-*c*]quinazolin-2-ylsulfanyl)carboxylic acids and their amides have already demonstrated antifungal activity [17,18].

### Materials and methods

Explants were cultured on Petri dishes, containing 10 mL of water with 0.01 mL of Tween-80. Each Petri dish contained 15 seeds of *Cucumis sativus* L. (kind “Konkurent”). Investigated compounds were added to dishes to acquire solutions of different concentrations (0.001, 0.005, 0.02, 0.1, 0.5 mg/mL). For every concentration 2 dishes were used. Control solution contained water with 0.01 mL of Tween-80. GA<sub>5</sub> was used as reference. Cultures were incubated in a growth room at 30±2 °C and at relative air humidity 80% for 72 h in darkness. The length of hypocotyl, main root, growth area and number of adventitious roots were measured under a dissecting microscope. The experiment was repeated for three times. Means are at P ≤ 0.05 and were calculated using the Student’s t-test.

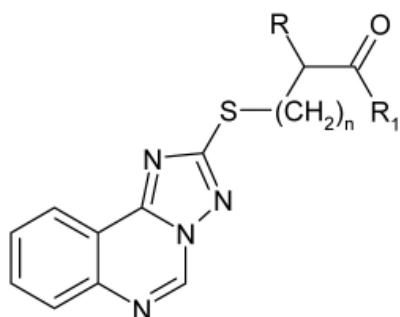


Fig. 1. Structure of the ([1,2,4]triazolo[1,5-*c*]quinazolin-2-ylsulfanyl)carboxylic acids and amides.

### Results and discussion

*Cucumis sativus* L. was selected from many species (bean, pea) as an indicator of growth activity causes it gives the most uniform and rapid response for the necessary measurements of root and hypocotyl. Structures of ([1,2,4] triazolo[1,5-*c*]quinazolin-2-ylsulfanyl)carboxylic acids and amides used for bioassays are shown in Figure 1. The detailed synthesis of compounds **1–8** and “structure-activity” relationship of their antibacterial and antimicrobial activity were reported earlier [17,18]. It worth mentioning, that substances **1–4** possess antifungal activity against *Candida albicans* in concentration 1-40 mg/mL and **5–7** – against *Aspergillus niger* in concentration 5 mg/mL.

It’s interesting, that the effect of hormesis, a dose-response relationship phenomenon characterized by low-dose stimulation and high-dose inhibition, was observed during the investigation [19]. The findings that low doses of herbicides can stimulate plant growth already had implications concerning herbicidal drift and their effects on adjacent crops [20, 21]. The increasing of the concentration to 0.5 mg/mL resulted in total inhibition of all *Cucumis sativus* L. growth parameters (Tables 1–4).

The highest significant hypocotyl growth stimulation was achieved by 3-([1,2,4]triazolo[1,5-*c*]quinazolin-2-ylsulfanyl) propionic (**3**) and 5-([1,2,4]triazolo[1,5-*c*]quinazolin-2-ylsulfanyl)pentanoic (**4**) acids in the concentrations 0.001 mg/mL (39.32% and 33.90%), 0.005 mg/mL (36.75% and 26.21%) and 0.02 mg/mL (47.29% and 17.38%). Thus,

Cmpd.	n	R	R <sub>1</sub>
1	0	H	OH
2	0	CH <sub>3</sub>	OH
3	1	H	OH
4	3	H	OH
5	0	H	N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
6	0	H	-N(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -
7	0	CH <sub>3</sub>	NHC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>
8	0	CH <sub>3</sub>	NH(m-OCH <sub>3</sub> -Ph)

Table 1

### Influence of the investigated compounds at the *Cucumis sativus* L. hypocotyl length

Compd.	Control [mm]	Concentration [mg/mL]									
		0.001		0.005		0.02		0.1		0.5	
		Hypocotyl length									
		mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
1	7.20	7.15	-0.69	6.60	-8.33	7.51	4.31	6.73	-6.53	2.22	-68.75
2	7.20	6.70	-6.94	6.40	-11.11	7.20	0	6.10	-15.28	3.90	-45.83
3	3.51	4.89	39.32	4.80	36.75	5.17	47.29	3.70	5.40	2.44	-30.48
4	3.51	4.70	33.90	4.43	26.21	4.12	17.38	3.61	2.85	2.55	-27.35
5	3.51	3.56	1.42	4.66	32.76	3.51	0	1.11	-68.38	0	-100.00
6	4.25	4.24	-0.24	3.96	-6.82	3.36	-20.94	2.10	-50.59	1.36	-68.00
7	4.25	4.02	-5.41	4.29	0.94	3.25	-23.53	2.33	-45.18	1.57	-63.06
8	3.51	3.58	1.99	4.42	25.93	4.06	15.67	4.04	15.10	3.32	-5.41
GA <sub>5</sub>	4.60	4.03	-12.50	6.34	37.82	5.90	28.26	5.83	26.74	6.05	31.52



Table 2

Influence of the investigated compounds at the *Cucumis sativus* L. root length

Compd.	Control [mm]	Concentration [mg/mL]									
		0.001		0.005		0.02		0.1		0.5	
		Root length									
		mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
1	5.00	4.17	-16.60	3.44	-31.20	4.68	-6.40	4.44	-11.20	2.84	-43.20
2	5.00	5.00	0	4.40	-12.00	5.70	14.00	4.80	-4.00	4.30	-14.00
3	4.01	3.98	-2.92	4.20	2.44	5.46	33.17	4.64	13.17	2.58	-37.07
4	4.01	2.47	-38.40	4.97	23.90	4.20	4.74	4.10	2.24	2.01	-49.87
5	4.01	2.98	-25.69	2.32	-42.14	2.78	-30.67	1.47	-63.34	0	-100.00
6	4.27	4.37	2.34	4.48	4.92	3.49	-18.27	2.84	-33.49	2.20	-48.48
7	4.27	4.14	-3.04	4.20	-1.64	2.20	-48.48	1.44	-66.28	1.20	-71.90
8	4.01	3.90	-2.74	4.40	9.70	4.32	7.73	4.29	6.98	2.41	-39.90
GA <sub>5</sub>	2.24	2.96	32.14	3.97	77.23	3.60	60.71	3.30	47.32	2.99	33.48

compound **3** even exceeded the GA<sub>5</sub> influence on hypocotyl except in the concentration of 0.5 mg/mL. Close values to that results showed diethylamide of acetic (**5**) (32.76%) and N-(m-methoxyphenyl)amide of propionic acid (**8**) (25.93%) at the latter concentration. Acids **1** and **2** almost hadn't affected the processes of hypocotyls' growth (Table 1). Amide **6** showed a cytotoxic activity in all concentrations, detaining elongation.

The length of roots during the experiment changed insignificantly. Not a single compound surpassed a GA<sub>5</sub> by activity. The best results of roots elongation were achieved by the substance **3** in concentration of 0.02 mg/mL (33.17%) and compound **4** - at 0.5 mg/mL (23.90%). A weak positive action was shown by the acetic (**6**) and  $\alpha$ -propionic acid (**8**) amides (Table 2). Substances **5** and **7** caused the delay of root growth.

Table 3

Influence of the investigated compounds at the *Cucumis sativus* L. root growth area length

Compd.	Control [mm]	Concentration [mg/mL]									
		0.001		0.005		0.02		0.1		0.5	
		Growth area length									
		mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
1	2.30	2.40	4.35	1.36	-40.87	2.17	-5.65	1.75	-23.91	0	-100.00
2	2.30	2.10	-8.70	2.30	0	3.20	39.13	0.70	-69.57	0	-100.00
3	1.98	1.92	-3.03	2.02	2.02	2.34	18.18	0.90	-54.55	0	-100.00
4	1.98	1.52	-23.23	2.46	24.24	1.61	-18.69	0.92	-53.54	0.24	-87.88
5	1.98	1.76	-11.11	1.58	-20.20	1.69	-14.65	0.73	-63.13	0	-100.00
6	2.03	1.92	-5.42	2.24	10.34	2.01	-0.99	1.55	-23.65	1.37	-32.51
7	2.03	2.64	30.05	-1.52	-25.12	0.99	-51.23	0.15	-92.61	0	-100.00
8	1.98	1.80	-9.09	2.08	5.05	1.94	-2.02	1.81	-8.59	1.38	-30.30
GA <sub>5</sub>	1.76	1.99	13.07	1.78	1.14	1.65	-6.25	1.47	-16.48	1.51	-14.20

Table 4

Influence of the investigated compounds at the number of *Cucumis sativus* L. adventitious roots

Compd.	Control [num]	Concentration [mg/mL]									
		0.001		0.005		0.02		0.1		0.5	
		Number of adventitious roots									
		num.	%	num.	%	num.	%	num.	%	num.	%
1	14.30	15.30	6.99	15.20	6.29	16.50	15.38	14.80	3.50	0	-100.00
2	14.30	14.00	-2.10	14.40	0.70	15.60	9.09	3.10	-78.32	0	-100.00
3	12.50	12.20	-2.40	11.40	-8.80	11.55	-7.60	5.00	-60.00	0	-100.00
4	12.50	12.18	-2.56	12.45	-0.40	9.64	-22.88	5.64	-54.88	2.27	-81.84
5	12.50	11.70	-6.40	10.50	-16.00	10.40	-16.80	4.50	-64.00	0	-100.00
6	14.00	13.50	-3.57	14.50	3.57	11.20	-20.00	8.30	-40.71	8.30	-40.71
7	14.00	9.40	-32.86	11.70	-16.43	8.70	-37.86	1.70	-87.86	0	-100.00
8	12.50	12.40	-0.80	11.50	-8.00	11.20	-10.40	9.80	-21.60	7.40	-40.80
GA <sub>5</sub>	9.70	10.25	5.67	10.40	7.22	10.51	8.35	10.70	10.31	8.50	-12.37

In concentration 0.001 mg/mL amide **7** and in 0.02 mg/mL acid **2** considerably exceeded the influence of GA<sub>5</sub> and promoted the growth root at 39.13% and 30.05% accordingly. The moderate lengthening of adventitious roots area was influenced by acids **3**, **4** and amides **6**, **8** in concentration 0.5 mg/mL (Table 3).

Almost all obtained compounds negatively affected the number of adventitious roots. Only acetic (**1**) and  $\alpha$ -propionic (**2**) acids showed insignificant growth stimulating effect from 0.7 to 15.38%. Substance **1** even exceeded effect of GA<sub>5</sub> in concentration 0.02 mg/mL (Table 4).

### Conclusion

To conclude, this is the first report about the growth regulation activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2-ylsulfanyl)carboxylic acids and amides on the *Cucumis sativus* L. cultivation. Almost all investigated substances

inhibited values of above-mentioned parameters of growth in the concentration 0.5 mg/mL. Exceptions were the amides of acetic (**5**) and  $\alpha$ -propionic acids (**7**), which showed the strongest cytotoxic activity inhibiting the cell growth of main and adventitious roots, demonstrating growth retardant properties. The best growth stimulators appeared to be acid **3** in the concentration of 0.02 mg/mL and **4** in the concentration of 0.5 mg/mL, which promoted *Cucumis sativus* L. hypocotyl growth at 47.29% and 26.21%, main root at 33.17% and 23.90%, adventitious roots at 18.18% and 24.24% accordingly, exceeding the activity of GA<sub>5</sub>.

Thus, the investigated compounds can be used as novel plant growth regulators or as inhibitors in high concentrations (>0.5 mg/mL) or as promoters in low concentrations (0.001-0.02 mg/mL), which additionally protect seeds from growth of *Aspergillus niger* and *Candida albicans*.

### References

1. Bumb B.L. Food, The role of fertilizer in sustaining food security and protecting the environment. Agriculture and the Environment Discussion / B.L. Bumb, C.A. Baanante // International Food Policy Research Institute. – Washington, 1996. – DC 7.
2. Pinstrip-Anderson P. The world food situation: recent developments, emerging issues and long-term prospects. Vision 2020: Food Policy Report. International Food Policy Research Institute / P. Pinstrip-Anderson, R. Pandey-Lorch, M. W. Rosegrant // Washington, 1997. – DC 36.
3. www.IFOAM.org (Accessed 23 Mar., 2011).
4. Lambrecht M. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions / M. Lambrecht, Y. Okon, A. Vande Broeck and J. Vanderleyden // Trends Microbiol. – 2000. – №8. – P. 298–300.
5. Rademacher W. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways / W. Rademacher // Annu. Rev. Plant. Phys. Biol. – 2000. – №51. – P. 501–503.
6. Richards D.E. How gibberellin regulates plant growth and development: A molecular genetic analysis of gibberellin signaling / D.E. Richards, K.E. King, T. Ait-ali, N.P. Harberd // Annu. Rev. Plant. Phys. – 2001. – №52. – P. 67–88.
7. Yamaguchi S. Gibberellin metabolism and its regulation / S. Yamaguchi // Annu. Rev. Plant. Biol. – 2008. – №59. – P. 225–251.
8. Tetcyclacis and triazole-type plant growth retardants: their influence on the biosynthesis of gibberellins and other metabolic processes / W. Rademacher, H. Fritsch, J. E. Graebe [et al.] // Pestic. Sci. – 2006. – №21. – P. 241–252.
9. [http://en.wikipedia.org/wiki/2011\\_E\\_coli\\_outbreak](http://en.wikipedia.org/wiki/2011_E_coli_outbreak) (Accessed 17 Jul., 2011).
10. Keith B. *In vitro* gibberellin A<sub>4</sub> binding to extracts of *Cucumber* hypocotyls / B. Keith, N.A. Foster, M. Bonnetmakera, L.M. Srivastava // Plant. Physiol. – 1981. – №68. – P. 344–348.
11. Keith B. *In vivo* binding of gibberellin A<sub>4</sub> to extracts of *Cucumber* measured by using DEAE-cellulose filters / B. Keith, S. Brown and L.M. Srivastava // Proc. Natl. Acad. Sci. – USA, 1982. – №79. – P. 1515–1519.
12. M. Katsumi. The roles of gibberellin and auxin in *Cucumber* hypocotyl growth / M. Katsumi, B.O. Phinney and W. K. Purves // Physiol. Plantarum – 2006. – №18. – P. 462–473.
13. Yalpani N. Competition for *in vitro* [3H] gibberellin A<sub>4</sub> binding in *Cucumber* by gibberellins and their derivatives / N. Yalpani and L. M. Srivastava // Plant. Physiol. – 1985. – №79. – P. 963–967.
14. Yalpani N. Competition for *in vitro* [3H]gibberellin A<sub>4</sub> binding in *Cucumber* by substituted phthalimides: Comparison with *in vivo* gibberellin-like activity / N. Yalpani, J.C. Suttle, J.F. Hultstrand, S.J. Rodaway // Plant. Physiol. – 1989. – №91. – P. 823–828.
15. Deepak A. Emerging antibiotic resistance in *Pseudomonas* – a challenge / A. Deepak, J. Neerja and K. R. Rajiv // IJPPS. – 2011. – №3. – P. 82–84.
16. Shenoy C. Preliminary phytochemical investigation and wound healing activity of *Allium cepa* L. (*Liliaceae*) / C. Shenoy, M. B. Patil and R. Kumar // IJPPS. – 2009. – №2. – P. 167–171.
17. Synthesis of new 2-thio-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline derivatives and its antimicrobial activity / L.N. Antypenko, A.V. Karpenko, S.I. Kovalenko [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2009. – №57. – P. 580–585.
18. Synthesis, cytotoxicity by bioluminescence inhibition, antibacterial and antifungal activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-2-ylthio)carboxylic acid amides / L.N. Antypenko, A.V. Karpenko, S.I. Kovalenko [et al.] // Arch. Pharm. Chem. Life. Sci. – 2009. – №342. – P. 651–662.
19. Calabrese E.J. Hormesis: the dose-response revolution / E.J. Calabrese and L.A. Baldwin // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2003. – №43. – P. 175–197.
20. Allender W.J. Effect of trifluoperazine and verapamil on herbicide stimulated growth of cotton / W.J. Allender // J. Plant. Nutr. – 1997. – №20. – P. 69–80.
21. Allender W.J. Effect of lithium and lanthanum on herbicide induced hormesis in hydroponically-grown cotton and corn / W.J. Allender, G.C. Cresswell, J. Kaldor, I.R. Kennedy // J. Plant. Nutr. – 1997. – №20. – P. 81–95.

### Відомості про авторів:

Антипенко Л.М., к. фарм. н., асистент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Коваленко С.І., д. фарм. н., професор каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Корнет М.М., к. біол. н., асистент каф. хімії ЗНУ.

Бразько О.А., д. біол. н., професор каф. хімії ЗНУ.

### Адреса для листування:

Антипенко Л.М. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

E-mail: antypenkol@gmail.com

Надійшла в редакцію 16.12.2011 р.

В.М. Коваль<sup>1</sup>, Л.В. Вронська<sup>2</sup>

## Визначення екстракту ехінацеї у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіною та екстрактом ехінацеї пурпурової

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет ім. Пирогова,

<sup>2</sup>Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

**Ключові слова:** ехінацея пурпурова, екстракт, хроматографія, кафтарова кислота, цикорієва кислота.

**Ключевые слова:** эхинацея пурпурная, экстракт, хроматография, каftarовая кислота, цикориевая кислота.

**Key words:** *Echinacea purple extract, chromatography, kaftaric acid, chicoric acid.*

Запропоновані ТШХ- і ВЕРХ-методици для визначення екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіною і екстрактом ехінацеї. У якості маркерів для ідентифікації і кількісного визначення екстракту ехінацеї пурпурової запропоновано кафтарову і цикорієву кислоти.

Предложены ТСХ- и ВЭЖХ-методици для определения экстракта эхинацеи пурпурной в таблетках цинка аспарагината с кислотой аскорбиновой и экстрактом эхинацеи. В качестве маркеров для идентификации и количественного определения экстракта эхинацеи пурпурной предложено каftarовую и цикориевую кислоты.

TLC and HPLC-method for determination of the Echinacea purple extract in tablets of zinc aspartate with ascorbic acid and Echinacea purple extract have been proposed. Kaftaric and chicoric acid have been suggested as markers for the Echinacea purple extract identification and assay.

Рослини роду *Echinacea (L.) Moench* знайшли широке застосування у медицині. Важливе значення мають ехінацея пурпурова, ехінацея вузьколиста і ехінацея біла [1]. Особливої популярності вони набули як імуномодулятори природного походження. Механізм дії препаратів ехінацеї визначається комплексом унікальних біологічно активних речовин (БАР) і є дуже складним, та, як і в більшості випадків з рослинними препаратами, до кінця невизначеним і суперечливим [2].

З введенням монографії на корені ехінацеї пурпурової у третью доповненні Державної фармакопеї України [3], до певної міри стало вирішеним питання підходу до контролю їх якості, зокрема вибрано маркерні речовини для ідентифікації і кількісного аналізу. Введення монографії на настойку ехінацеї вирішило питання контролю якості даного готового лікарського засобу, проте запропонований підхід не завжди може бути застосований при аналізі інших препаратів ехінацеї пурпурової в зв'язку з неселективністю використаної фотометричної реакції [3]. Автори [4] зробили спробу стандартизації ехінацеї пурпурової у багатокомпонентних рослинних сумішах за вмістом кислоти цикорієвої, проте з огляду на вимоги ДФУ до коренів ехінацеї пурпурової запропонований підхід не може застосовуватись. Тому необхідною є розробка об'єктивних і селективних методик ідентифікації і кількісного визначення БАР екстракту ехінацеї пурпурової.

### Мета роботи

Розробка методик ідентифікації і кількісного визначення біологічно активних речовин екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіною і екстрактом ехінацеї пурпурової та встановлення критеріїв їх якості.

### Матеріали і методи дослідження

У роботі використано методи тонкошарової (ТШХ) і

високоєфективної рідинної (ВЕРХ) хроматографії. Для досліджень методом ТШХ застосовували хроматографічні пластинки Silica gel 60 F<sub>254</sub> («Merck», Німеччина), хроматографічну камеру «САМАГ», приладу для нанесення проб Linomat 5 («САМАГ», Швейцарія), лампу для перегляду хроматограм в ультрафіолетовому світлі «САМАГ». Для ВЕРХ-досліджень використовували рідинний хроматограф Agilent 1200 з детектором діодна матриця («Agilent», США).

Для ідентифікації і кількісного визначення використовували стандартні зразки фенолкарбонових кислот: хлорогенова кислота (Fluka), кавава кислота (Fluka), розмаринова кислота (Fluka), цикорієва кислота (фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ ДФУ)), кафтарова кислота (Sigma) і стандартний зразок аскорбінової кислоти (Sigma). Точні наважки стандартних зрізів розчиняли у відповідних об'ємах 70% спирту етилового.

Використовували реактиви (етилацетат, кислоту мурашину безводну, аміноетиловий ефір дифенліборної кислоти, макрогол 400, кислоту ортофосфорну, ацетонітрил) кваліфікації чистоти, що відповідає вимогам ДФУ для відповідних методів аналізу, розчини реактивів готували за методиками ДФУ [5].

Хроматографічні характеристики речовин у методі ТШХ розраховували за формулами відповідно до [6], а в методі ВЕРХ – відповідно до [5].

### Результати та їх обговорення

Селективним і експресним методом і найчастіше використовуваним для ідентифікації БАР у лікарській рослинній сировині (ЛРС) та препаратах на її основі, залишається тонкошарова хроматографія. У монографії на корені ехінацеї пурпурової пропонується ідентифікувати ряд БАР, проте тим же методом ВЕРХ доводиться принципова відмінність трьох використовуваних видів ехінацеї – білої, вузьколистої і пурпурової, зокрема

для останньої притаманна наявність цикорієвої і кафтарової кислот. Маркери, запропоновані у монографії на корені ехінацеї, не є широко доступними стандартними речовинами, тому розглянуто можливість використати 2 фенолкарбонові кислоти у якості маркерів для ТШХ-ідентифікації екстракту ехінацеї у складі досліджуваних таблеток. Екстракт ехінацеї, використаний при створенні таблеток, попередньо досліджували на тотожність екстрактові саме ехінацеї пурпурової через наявність зазначених гідроксикоричних кислот. Тому ці речовини обрано для ідентифікації і кількісного визначення екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї пурпурової.

Як відомо, вибір рухомої фази у хроматографії завжди важливіший від вибору нерухомої. Випробовано ряд складів рухомих фаз, використовуваних при ТШХ-дослідженнях фенолкарбонових кислот і флавоноїдів. Найефективніше розділення БАР екстракту коренів ехінацеї пурпурової (цикорієвої і кафтарової кислот) з іншими гідроксикоричними кислотами і кислотою аскорбіновою спостерігали при застосуванні рухомої фази кислота мурашина безводна – вода – еталацетат (6:9:90). На отриманих хроматограмах спостерігали чітко розділені зони, а результати визначення деяких хроматографічних характеристик досліджуваних БАР наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

**Хроматографічні характеристики гідроксикоричних кислот і кислоти аскорбінової у системі розчинників кислота мурашина безводна Р – вода Р – еталацетат Р (6:9:90)**

Речовина	$R_f$	Коефіцієнт розділення	Число теоретичних тарілок
Кислота аскорбінова	0,29	62	3136
Кислота хлорогенова	0,32	74	4096
Кислота кафтарова	0,37	109	5476
Кислота цикорієва	0,76	264	23104
Кислота розмаринова	0,80	287	25600
Кислота кавова	0,82		26896

Наведені у таблиці 1 дані вказують на придатність дослідженої системи розчинників для ідентифікації кафтарової і цикорієвої кислот як маркерів БАР екстракту ехінацеї пурпурової за наявності кислоти аскорбінової та деяких інших фенолкарбонових кислот методом ТШХ. Отже, ідентифікацію екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї пропонуємо проводити за кислотою кафтаровою і цикорієвою відповідно до поданої нижче методики.

*Методика ідентифікації екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагінату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї*

*Випробуваний розчин.* 0,6 г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 15 мл спирту (70% об/об), витримують в ультразвуковій

бані протягом 15 хв, доводять об'єм розчину спиртом (70% об/об) до позначки, перемішують і фільтрують.

*Розчин порівняння.* 0,5 мг кислоти кафтарової і 0,5 мг кислоти цикорієвої розчиняють у 25,0 мл спирту (70% об/об).

На лінію старту хроматографічної пластинки окремо смугами по 10 мм наносять 20 мкл випробуваного розчину та 10 мкл розчину порівняння. Пластинку поміщають у камеру з сумішшю розчинників кислота мурашина безводна – вода – еталацетат (6:9:90). Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають з камери.

*Висушування.* Сушать на повітрі, а потім витримують за температури від 100 до 105°C протягом 2 хв.

*Виявлення.* Теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, сушать на повітрі. Потім пластинку обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

*Результати.* На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися (у порядку зростання  $R_f$ ): блакитна флуоресціююча зона, відповідна кислоті кафтаровій ( $R_f = 0,37$ ); блакитна флуоресценціююча зона, відповідна кислоті цикорієвій ( $R_f = 0,76$ ).

На хроматограмі випробуваного розчину мають виявлятися 2 зони (кислоти кафтарової і кислоти цикорієвої) на рівні зон на хроматограмі розчину порівняння, відповідні їм за забарвленням і флуоресценцією, і зона кислоти аскорбінової ( $R_f = 0,29$ ) нижче зони кислоти кафтарової на хроматограмі розчину порівняння. Може виявлятися інша зона блакитної або синьої флуоресценції (кислота кавова ( $R_f = 0,82$ )).

Послідовність зон на хроматограмах випробуваного розчину та розчину порівняння наведено на рис. 1.

Верхня частина пластинки	
<i>Кислота цикорієва:</i> зеленкувато-блакитна флуоресценціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кислота кавова) зеленкувато-блакитна флуоресценціююча зона (кислота цикорієва)
<i>Кислота кафтарова:</i> блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кислота кафтарова) фіолетова флуоресціююча зона (кислота аскорбінова)
Розчин порівняння	Випробуванний розчин

*Рис. 1.* Схема хроматограми в умовах ідентифікації екстракту ехінацеї після обробки розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти і макроголу при перегляді в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

Кількісне визначення фенолкарбонових кислот у ГЛЗ частіше всього проводять спектрофотометрично, як, наприклад, для настойки ехінацеї пурпурової [3], застосовуючи сумарні фотометричні реакції для отримання забарвленої сполуки. За наявності кислоти аскорбінової, як у нашому випадку, запропонована [3] реакція фенолкарбонових кислот з молібден-нітритним реактивом не може бути використана, оскільки аскорбінова кислота також дає цю реакцію. Тому для визначення екстракту

Таблиця 2.

**Схема градієнта елюювання при кількісному визначенні фенолкарбонових кислот екстракту ехінацеї пурпурової**

Час, хв	Рухома фаза А, (% об/об)	Рухома фаза В, (% об/об)
0	90	10
0–13	90 → 78	10 → 22
13–14	78 → 60	22 → 40
14–20	60	40

*Придатність хроматографічної системи:*

– коефіцієнт розділення: не менше 5 для піків кислоти кавової та кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння.

Визначають піки кислоти хлорогенової та кислоти кавової, використовуючи хроматограму розчину порівняння. Визначають піки кислоти кафтарової та кислоти цикорієвої, використовуючи відносні часи утримування і схему хроматограми, наведену на рис. 1824.-1 у [3].

Вміст кислоти кафтарової ( $X_1$ ) у відсотках від вмісту екстракту ехінацеї у таблетках обчислюють за формулою:

$$X_1 = \frac{A_1 \cdot 0,881 \cdot b}{2 \cdot A_0 \cdot m \cdot a} \cdot 100$$

Вміст кислоти цикорієвої ( $X_2$ ), у відсотках від вмісту екстракту ехінацеї у таблетках обчислюють за формулою:

$$X_2 = \frac{A_2 \cdot 0,695 \cdot b}{2 \cdot A_0 \cdot m \cdot a} \cdot 100$$

де  $A_1$  – площа піка кислоти кафтарової на хроматограмі випробовуваного розчину;

$A_0$  – площа піка кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння;

$A_2$  – площа піка кислоти цикорієвої на хроматограмі випробовуваного розчину;

$a$  – декларований вміст екстракту ехінацеї у таблетці, г;

$b$  – середня маса таблетки, г;

$m$  – маса наважки порошку розтертих таблеток, г;

0,695 – коефіцієнт перерахунку для кислоти цикорієвої в описаних умовах хроматографування;

0,881 – коефіцієнт перерахунку кислоти кафтарової за кислотою хлорогеновою в описаних умовах хроматографування.

Використано ряд колонок з октадецилсилильним силікагелем (AquaPerfect C18, XTerra C18). Найкращі значення коефіцієнтів симетрії та коефіцієнтів розділення піків кислоти хлорогенової і кислоти кавової на хроматограмі розчину порівняння отримано на колонці XTerra C18. Час утримування піка кислоти хлорогенової і відносні часи утримування піків кислоти кафтарової і кислоти цикорієвої при застосуванні описаного градієнту найближчі до запропонованих у ДФУ [3] отримано при використанні колонки XTerra C18.

ехінацеї у таблетках цинку аспарагіату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї обрано метод ВЕРХ. Серед апробованих хроматографічних систем вибір зупинено на описаній у монографії «Ехінацеї пурпурової корені», оскільки використовуючи фармакопейні методики можна скоротити об'єм валідаційних робіт.

Дослідження умов пробопідготовки дали змогу запропонувати спирт (70 % об/об) для розчинення БАР проби; ультразвукову обробку протягом 15 хв для підвищення ефективності вилучення БАР екстракту з порошку розтертих таблеток; кінцеве розбавлення випробовуваного розчину і розчину порівняння розчином, що містить рухому фазу А і рухому фазу В у співвідношенні 90:10, що дало змогу покращити симетрію хроматографічного піка кислоти кафтарової. Отже, для кількісного визначення екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагіату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї запропонована методика подана нижче.

*Методика кількісного визначення екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагіату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї*

*Випробовуваний розчин.* 1,20 г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 30 мл спирту (70% об/об) Р, витримують в ультразвуковій бані протягом 15 хв і доводять об'єм розчину спиртом (70% об/об) Р до 50,0 мл. Отриману суспензію перемішують і витримують декілька хвилин до осадження видимих твердих частинок, фільтрують.

2,0 мл отриманого фільтрату поміщають у мірну колбу місткістю 5 мл і доводять об'єм розчином, що містить рухому фазу А і рухому фазу В у співвідношенні 90:10, до позначки та перемішують.

*Розчин порівняння.* 10,0 мг стандартного зразка кислоти хлорогенової і 10,0 мг стандартного зразка кислоти кавової розчиняють у спирті (70% об/об) Р, витримують в ультразвуковій бані протягом 15 хв і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл. 1,0 мл отриманого розчину доводять розчином, що містить рухому фазу А і рухому фазу В у співвідношенні 90:10, до об'єму 25,0 мл.

*Колонка:*

– розмір 0,25 м × 4,6 мм;

– *нерухома фаза* – силікагель октадецилсилильний для хроматографії Р (5 мкм);

– *температура* 35°C.

*Рухома фаза:*

– *рухома фаза А:* кислота фосфорна Р – вода Р (1:999);

– *рухома фаза В:* ацетонітрил Р (табл. 2).

*Швидкість рухомої фази* 1,5 мл/хв.

*Детектування* спектрофотометрично за довжини хвилі 330 нм.

*Об'єм інжекції* 10 мкл.

*Відносні часи утримування* до кислоти хлорогенової (час утримування кислоти хлорогенової близько 7 хв): кислоти кафтарової – близько 0,8; кислоти кавової – близько 1,2; кислоти цикорієвої – близько 2,3.

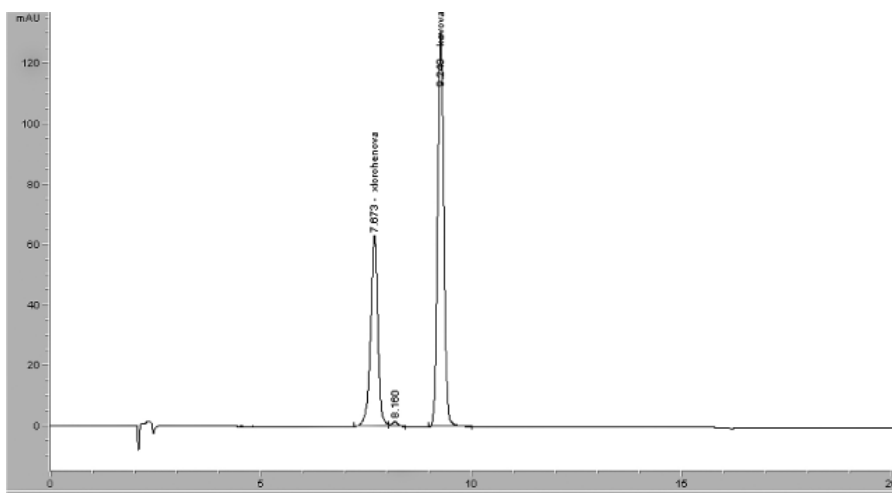


Рис. 2. Хроматограма розчину порівняння в умовах кількісного визначення екстракту ехінацеї пурпурової (час утримування кислоти хлорогенової – 7,673 хв, кислоти кавової – 9,248 хв).

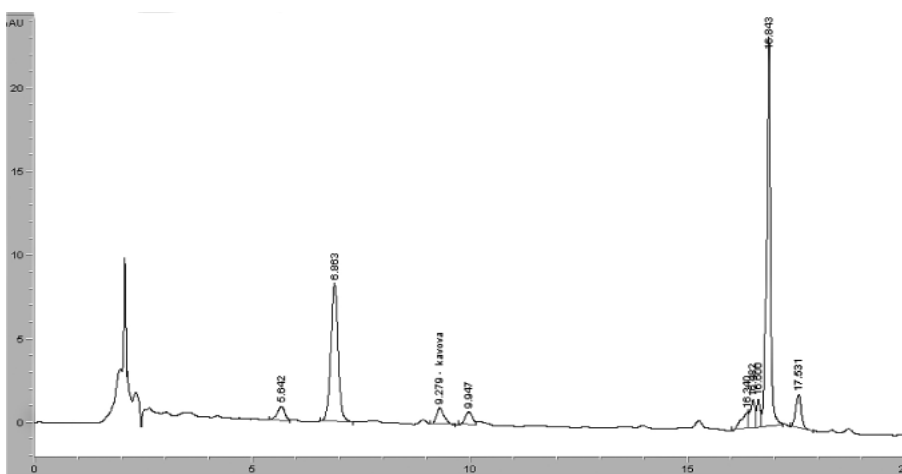


Рис. 3. Хроматограма випробовуваного розчину в умовах кількісного визначення екстракту ехінацеї пурпурової (час утримування кислоти кафтарової – 6,863 хв, кислоти цикорієвої – 16,843 хв).

На рис. 2, 3 наведені хроматограми розчину порівняння і випробовуваного розчину, отримані згідно запропонованої методики на колонці XTerra C18.

У запропонованих умовах хроматографування досліджено поведінку кислоти аскорбінової. Встановлено, що вона не детектується при довжині хвилі 330 нм, тому не заважає визначенню екстракту ехінацеї пурпурової. Для вивчення поведінки цинк аспарагіату в обраних умовах хроматографували його насичений розчин у спирті (70% об/об), перед хроматографуванням розбавлений (як і всі розчини) сумішшю рухомих фаз А і В, що відповідала складу рухомої фази на нульовій хвилині градієнта. Ви-

явлено, що цинк аспарагіат у запропонованих умовах не детектується, а отже, не заважає визначенню БАР екстракту ехінацеї пурпурової. Інші активні фармацевтичні інгредієнти таблеток не впливають на кількісне визначення екстракту ехінацеї, а отже, запропонована методика є селективною.

За отриманими хроматограмами розчину порівняння і випробовуваного розчину розраховували деякі хроматографічні характеристики піків використуваних і визначуваних речовин (табл. 3), значення яких вказують на придатність хроматографічної системи.

Таблиця 3

**Хроматографічні характеристики гідроксикоричних кислот в умовах ВЕРХ-визначення екстракту ехінацеї пурпурової**

Речовина	Час утримування, хв	Коефіцієнт розділення	Коефіцієнт симетрії	Число теоретичних тарілок
Кислота хлорогенова	7,6	6,49	1,10	16154
Кислота кавова	9,2		0,92	23407
Кислота кафтарова	6,9	44,55	1,05	14980
Кислота цикорієва	16,8		1,18	90060

**Результати визначення фенолкарбонових кислот екстракту ехінацеї пурпурової методом ВЕРХ (n=5, P=0,95)**

Зразок	Вміст		
	Кислоти кафтарової, %	Кислоти цикорієвої, %	Сумарний вміст фенолкарбонових кислот, %
Екстракт ехінацеї пурпурової	0,39 ± 0,02	0,46 ± 0,01	0,85 ± 0,01
Модельна суміш	0,40 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,86 ± 0,01
Таблетки*	*0,39 ± 0,01	*0,45 ± 0,02	*0,84 ± 0,01

*Примітка:* \* – вміст БАР у таблетках (у %) розраховували відносно до декларованого вмісту екстракту ехінацеї у таблетках.

У досліджених умовах хроматографування проаналізовано екстракт ехінацеї пурпурової, модельна суміш з активних інгредієнтів, що входять до складу аналізованих таблеток у співвідношенні, що відповідає складу у ГЛЗ, і таблетки цинку аспарагіату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї пурпурової. Результати визначення кислоти кафтарової і кислоти цикорієвої у зазначених зразках наведено у *таблиці 4*.

Як впливає з результатів кількісного визначення, запропонована методика пробопідготовки і кількісного визначення може бути використана для аналізу сухого екстракту ехінацеї пурпурової і ГЛЗ, що його містить.

#### Висновки

1. Ідентифікаційними і кількісними маркерами екстракту ехінацеї пурпурової у таблетках цинку аспарагіату з кислотою аскорбіновою і екстрактом ехінацеї доцільно обрати кислоту кафтарову і цикорієву.

2. Для ідентифікації БАР екстракту ехінацеї доцільно застосовувати метод ТШХ з використанням рухомої фази кислота мурашина безводна – вода – етилацетат (6:9:90) та кафтарової і цикорієвої кислот як речовин-свідків.

3. Для стандартизації вмісту екстракту у таблетках запропоновано кількісне визначення кислоти кафтарової і кислоти цикорієвої методом ВЕРХ з використанням кислоти хлорогенової як зовнішнього стандарту.

#### Список літератури

1. *Мамчур Ф.І.* Хімічний склад, фармакологічні властивості рослин роду *Echinacea* (Asteraceae) / Ф.І. Мамчур, Б.М. Зузук, А.А. Василюшин // Фарм. журнал. – 1993. – №2. – С. 38–40.
2. *Куцик Р.В.* Імунокоригуючі і протизапальні властивості біологічно активних речовин рослин роду *Echinacea* Moench / Р.В. Куцик, Б.М. Зузук, О.В. Рибак // Провізор. – 1999. – №4. – С. 40–45.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. –
4. *Гудзенко А.В.* Стандартизація ехінацеї пурпурової у багатокомпонентних рослинних сумішах / А.В. Гудзенко, Т.В. Ковальчук, О.О. Цуркан // Фарм. журнал. – 2009. – №1. – С. 130–135.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
6. *Васильєв В.П.* Аналітична хімія / Васильєв В.П. – М.: Дрофа, 2004. – 322 с.

#### Відомості про авторів:

Коваль В.М., здобувач, асистент каф. фармації ВНМУ ім. М.І. Пирогова.  
Вронська Л.В., к. хім. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського.

#### Адреса для листування:

Коваль Василь Миколайович. 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, каф. фармації ВНМУ ім. М.І. Пирогова.  
E-mail: koval\_vm@ukr.net

Надійшла в редакцію 11.06.2012 р.

С.А. Куценко

## Розробка складу настойки для комплексної терапії варикозної хвороби вен

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** технологія, настойка, варикозне розширення вен.

**Ключевые слова:** технология, настойка, варикозное расширение вен.

**Key words:** technology, infusion, varicose.

Проаналізовано й узагальнено дані наукової літератури щодо використання лікарської рослинної сировини у комплексній терапії варикозної хвороби вен. Обґрунтовано склад збору для отримання настойки на його основі. Наведено результати експериментальних досліджень з вибору екстрагенту та часу екстракції.

Проанализованы и обобщены данные научной литературы об использовании лекарственного растительного сырья в комплексной терапии варикозной болезни вен. Обоснован состав сбора для получения настойки на его основе. Приведены результаты экспериментальных исследований по выбору экстрагента и времени экстракции.

The literature data on the use of medicinal plants in the treatment of varicose veins are analyzed and summarized. The composition of the plants for manufacturing tinctures is justified. The results of experimental studies on the choice of solvent are shown.

Складність етіології та патогенезу захворювань вен, важкість їх перебігу, ймовірність ускладнень пояснює необхідність комплексної фармакотерапії із застосуванням ефективних і безпечних рослинних засобів з достатньою сировинною базою для їх виробництва. Спектр біологічної активності лікарських рослин визначається наявністю необхідної кількості речовин різних хімічних класів і груп [3,4]. Домінування фармакологічного ефекту, що є визначальним для конкретної рослини, зумовлюється кількісним вмістом біологічно активних речовин (БАР). Саме він відповідає за терапевтичну активність збору та посилення дії його інших складових. Тому при розробці складу рослинної суміші для лікування варикозної хвороби враховано знання етіології та патогенезу захворювання, складу біологічно активних речовин рослин, досвід їх використання в традиційній і народній медицині [2].

Природний тритерпеновий глікозидний сапонін есцин має виражену капілярно-протекторну й антиексудативну активності. Лікувальна дія есцину при варикозному розширенні вен зумовлюється підвищенням резистентності капілярів (внаслідок пригнічення активності гіалуронідази), резистентності еритроцитів, стимулює антитромботичну активність сироватки крові, припиняє пригнічення продукції антитромбіну в ретикуло-ендотеліальній системі, що знижує в'язкість крові й, у такий спосіб, сприяє відтоку венозної крові [7].

За лікувальною дією близькими до есцина є флавоноїди. Для них характерний позитивний вплив на стан капілярів за рахунок підвищення їх еластичності та проникності, а також кардіотропний, спазмолітичний, гіпертензивний, сечогінний, жовчогінний і протизапальний ефекти [6].

Підтвердженням фактом є те, що при судинній патології доцільно використовувати також кумарини, органічні кислоти, що впливають на гемостаз [2].

### Мета роботи

Для лікування варикозної хвороби вен з урахуванням патофізіологічних механізмів розвитку захворювання доцільно розробка комплексного препарату у вигляді настойки з використанням лікарської сировини (ЛРС), що містить зазначені БАР.

### Матеріали і методи дослідження

За попередніми фармакологічними дослідженнями та за результатами аналізу даних спеціалізованої літератури обрано лікарські рослини, які запропоновано ввести до складу складної настойки ангіопротекторної дії [8].

Екстрагування проводили спиртово-водними розчинами з концентрацією етанолу 20%, 40%, 70%. Співвідношення сировина – екстрагент складало 1:5 та 1:10. Час досягнення рівноважної концентрації встановлювали шляхом настоювання серії наважок збору з екстрагентом до повного припинення збільшення кількості екстрактивних речовин. Кількісну оцінку повноти витягання проводили за основними біологічно-активними речовинами збору – рутином та есцином, що мають питомий показник поглинання в УФ-зоні спектра [1]. Визначення концентрації спирту проводили за показником заломлення та густиною настойки. Розмір показника заломлення складається з показника заломлення води, етанолу й екстрактивних речовин. Показник заломлення визначали рефрактометричним методом, для розрахунку концентрації водно-спиртової суміші використовували наступну формулу [9]:

$$X = 963 \cdot (n - n_0) + 353 \cdot (\rho_0 - \rho),$$

де 963 та 353 – емпіричні коефіцієнти;

$n$  – показник заломлення настойки;

$n_0$  – показник заломлення води;

$\rho$  – густина настойки;

$\rho_0$  – густина води.

Оптимальне співвідношення ЛРС та екстрагенту забезпечує необхідний для процесу екстракції градієнт концентрації. Встановлюючи співвідношення об'єму



екстрагенту та маси ЛРС, враховують фізико-хімічні, фармакологічні властивості діючих речовин, значення загальної втрати маси. Під значенням загальної втрати екстрагенту розуміють втрату, зумовлену поглинанням екстрагенту ЛРС, змочуванням апаратури та випаровуванням екстрагенту в процесі екстракції [10].

#### Результати та їх обговорення

Тому з метою прогнозування об'єму екстрагенту за загальноновизнаними методиками встановлено коефіцієнт поглинання збору – 3,14; ступінь набрякання – 2,14; об'ємна густина – 0,44 г/мл. З наведених даних (табл. 1 та 2), видно, що виготовлена на 40% етиловому спирті при співвідношенні 1:10 настійка, містить найбільшу кількість флавоноїдів та есцину, а саме 0,1006±0,0059%

та 3,65±0,03%. У настійках сировини, виготовлених на 70% і 20% етиловому спирті вміст зазначених речовин дещо менше, вміст есцину становить 0,93±0,032%, 23±0,03%, а флавоноїдів 0,052±0,0006%, 0,0523±0,0062% відповідно при проведенні екстракції протягом 24 години. В настійках, отриманих тим самим екстрагентом, але з більшим вмістом сировини показники відрізняються дещо меншими значеннями вмісту БАР і збільшенням часу отримання витяжки.

Отже, результати проведених досліджень свідчать, що екстрагування рослинної суміші доцільно проводити 40% етанолом у співвідношенні сировини й екстрагенту – 1:10, час настоювання – 24 години.

Таблиця 1

Результати визначення концентрації екстрагенту та часу настоювання (1:5)

Концентрація етанолу	Час настоювання, год	6	12	18	24	36	48
20%	Вміст суми флавоноїдів, %	0,0326±0,0134	0,0395±0,0079	0,0534±0,0064	0,0623±0,0062	0,0656±0,0288	0,0698±0,0087
	Сухий залишок	0,51±0,06	0,71±0,06	0,83±0,01	0,91±0,03	0,89±0,04	0,90±0,01
	Показник заломлення	1,3470±0,0007	1,3469±0,0017	1,3426±0,0010	1,3420±0,0011	1,3422±0,0010	1,3418±0,0007
	pH	6,00±0,00	6,02±0,03	6,06±0,03	6,10±0,03	6,14±0,03	6,04±0,05
	Відносна густина	0,9662±0,0010	0,9656±0,0014	0,9662±0,0005	0,9676±0,0007	0,9684±0,0007	0,9602±0,0010
	Вміст етанолу, %	19,78±0,30	19,5±0,29	19,08±0,35	19,08±0,36	18,76±0,21	18,42±0,40
	Вміст есцину, %	1,91±0,06	2,01±0,04	2,09±0,05	2,23±0,03	2,05±0,02	2,03±0,04
40%	Вміст суми флавоноїдів	0,053±0,014	0,064±0,007	0,089±0,006	0,96±0,005	0,93±0,029	0,103±0,008
	Сухий залишок	1,91±0,06	2,11±0,06	2,09±0,01	2,11±0,03	1,89±0,04	2,10±0,01
	Показник заломлення	1,3580±0,0007	1,3579±0,0017	1,3578±0,0010	1,3576±0,0011	1,3572±0,0010	1,3576±0,0007
	pH	6,02±0,00	6,06±0,03	6,08±0,03	6,14±0,03	6,15±0,03	6,01±0,05
	Відносна густина	0,9562±0,0010	0,9556±0,0014	0,9562±0,0005	0,9576±0,0007	0,9584±0,0007	0,9602±0,0010
	Вміст етанолу	39,78±0,30	39,5±0,29	39,08±0,35	39,08±0,36	38,76±0,21	38,42±0,40
	Вміст есцину, %	2,21±0,06	2,36±0,04	2,59±0,05	3,65±0,03	3,65±0,02	3,53±0,04
70%	Вміст суми флавоноїдів, %	0,025±0,003	0,035±0,005	0,046±0,004	0,051±0,006	0,054±0,005	0,050±0,005
	Сухий залишок	1,30±0,02	1,74±0,07	1,70±0,03	2,00±0,05	1,98±0,09	1,70±0,0077
	Показник заломлення	1,3646±0,0010	1,3648±0,0010	1,3642±0,0010	1,3646±0,0010	1,3654±0,0010	1,3642±0,0010
	pH	6,08±0,03	6,10±0,03	6,12±0,03	6,14±0,03	6,14±0,03	6,04±0,05
	Відносна густина	0,8431±0,0010	0,8430±0,0014	0,8436±0,0005	0,8440±0,0007	0,8443±0,0007	0,8447±0,0010
	Вміст етанолу, %	70,01±0,30	69,95±0,29	69,88±0,35	69,88±0,36	68,79±0,21	68,42±0,40
	Вміст есцину, %	1,52±0,06	1,61±0,04	1,68±0,05	2,43±0,03	2,39±0,02	2,40±0,04

Примітка: P=0,95, n=5.

Результати визначення концентрації екстрагенту та часу настоювання (1:10)

Концентрація етанолу	Час настоювання, год	6	12	18	24	36	48
20%	Вміст суми флавоноїдів, %	0,0221±0,0134	0,0325±0,0079	0,0483±0,0064	0,0523±0,0062	0,0556±0,0288	0,0551±0,0087
	Сухий залишок	0,43±0,06	0,46±0,06	0,53±0,01	0,68±0,03	0,79±0,04	0,93±0,01
	Показник заломлення	1,3460±0,0007	1,3459±0,0017	1,3456±0,0010	1,3456±0,0011	1,3453±0,0010	1,3451±0,0007
	pH	6,01±0,00	6,03±0,03	6,09±0,03	6,11±0,03	6,14±0,03	6,16±0,05
	Відносна густина	0,9662±0,0010	0,9656±0,0014	0,9662±0,0005	0,9676±0,0007	0,9684±0,0007	0,9602±0,0010
	Вміст етанолу	19,78±0,30	19,5±0,29	19,08±0,35	19,08±0,36	18,76±0,21	18,42±0,40
	Вміст есцину, %	1,91±0,06	2,01±0,04	2,09±0,05	2,23±0,03	2,05±0,02	2,03±0,04
40%	Вміст суми флавоноїдів, %	0,0658±0,0059	0,0756±0,0055	0,0966±0,0041	0,1006±0,0059	0,0914±0,0050	0,0916±0,0051
	Сухий залишок	1,91±0,06	2,11±0,06	2,09±0,01	2,11±0,03	1,89±0,04	2,10±0,01
	Показник заломлення	1,3580±0,0007	1,3579±0,0017	1,3578±0,0010	1,3576±0,0011	1,3572±0,0010	1,3576±0,0007
	pH	6,00±0,00	6,04±0,03	6,06±0,03	6,08±0,03	6,10±0,03	6,10±0,05
	Відносна густина	0,9562±0,0010	0,9556±0,0014	0,9562±0,0005	0,9576±0,0007	0,9584±0,0007	0,9602±0,0010
	Вміст етанолу	39,78±0,30	39,5±0,29	39,08±0,35	39,08±0,36	38,76±0,21	38,42±0,40
	Вміст есцину, %	2,21±0,06	2,36±0,04	2,59±0,05	3,65±0,03	3,65±0,02	3,53±0,04
70%	Вміст суми флавоноїдів, %	0,036±0,002	0,045±0,004	0,049±0,003	0,052±0,006	0,054±0,004	0,053±0,006
	Сухий залишок	1,04±0,02	1,24±0,07	1,34±0,03	1,38±0,05	1,43±0,09	1,46±0,0077
	Показник заломлення	1,3636±0,0010	1,3640±0,0010	1,3640±0,0010	1,3639±0,0010	1,3642±0,0010	1,3642±0,0010
	pH	6,12±0,02	6,14±0,06	6,20±0,05	6,26±0,04	6,35±0,06	6,42±0,03
	Відносна густина	0,8426±0,0007	0,8436±0,0012	0,8436±0,0006	0,8434±0,0005	0,8436±0,0006	0,8436±0,0009
	Вміст етанолу	70,01±0,30	69,95±0,29	69,88±0,35	69,88±0,36	68,79±0,21	68,42±0,40
	Вміст есцину, %	0,72±0,06	0,83±0,04	0,88±0,05	0,93±0,03	0,98±0,02	1,02±0,04

Примітка: P=0,95, n=5.

### Висновки

Узагальнено дані спеціалізованої літератури щодо використання лікарської рослинної сировини для комплексної терапії варикозного розширення вен і запропоновано оптимальний склад складної настойки.

Експериментально обґрунтовано параметри екстракції біологічно активних речовин запропонованого збору: час настоювання, співвідношення сировини й екстрагенту.

### Список літератури

- Беликов В.В. Избирательный метод анализа флавоноидов и фитохимических препаратов / В.В. Беликов, Т.В. Точкова, Н.Г. Колесник // Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств: Сб. мат. Всесоюз. конф. – М., 1991. – Т. 2, ч. 2. – С. 13.
- Бобылева Н.С. Зарубежные лекарственные, косметические средства и биологически активные добавки из растительного сырья (патенты и заявки; 2004 г.) / Н.С. Бобылева // Растительные ресурсы. – 2007. – №1. – С. 141–166.
- Викторов А.П. Хронічна венозна недостатність: симптоматичне лікування / А.П. Викторов // Ліки України. – 2004. – №5. – С. 93–94.
- Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука, 1990. – 327 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РИПЕГ, 2001. – 556 с.
- Елецкая О.А. Исследования в области разработки галеновых препаратов из лекарственных сборов / О.А. Елецкая, И.Н. Маравина, В.Я. Яцок // Фармация. – 1998. – №6. – С. 13–14.
- Жарова О.Г. Фитохимический и фармакоэкономический анализ ангиопротекторных и веноотонизирующих препаратов на основе семян каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) / О.Г. Жарова // Аспирантские чтения. – Самара, 2004. – С. 477–479.
- Куценко С.А. Перспективы создания новых лекарственных средств для комплексного лечения венозной недостаточности / С.А. Куценко, Е.А. Рубан, И.В. Ковалевская // Материалы науч.-практ. конф. «Интеграция образования, науки и производства в фармации», г. Ташкент, 19–20 окт. 2010 г. – Ташкент: ТФИ, 2010. – С. 268.
- Рефрактометрический метод анализа; учебно-методическое пособие / Под ред. проф. Е.А. Краснова. – Томск, 2002 – 36 с.
- Чижова Е.Т. О коэффициентах водопоглощения лекарственного растительного сырья / Е.Т. Чижова, Г.В. Михайлова // Фармация. – 2001. – №1. – С. 35–37.

### Відомості про автора:

Куценко С.А., к. фарм. н., здобувач каф. заводської технології ліків НФаУ.

### Адреса для листування:

Куценко С.А., 61146, м. Харків, вул. Блюхера, 4, каф. заводської технології ліків НФаУ. Тел.: (0572) 67 88 52.

Надійшла в редакцію 10.01.2011 р.



А.Ю. Мордінсон<sup>1</sup>, М.О. Хмельова<sup>2</sup>, О.А. Євтіфєєва<sup>1</sup>

## Оптимізація та валідація хімічних методів ідентифікації інгредієнтів мазі Бороментол аптечного виготовлення

Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

**Ключові слова:** випробування на ідентифікацію, ментол, кислота борна, валідація методик якісного аналізу.

**Ключевые слова:** испытание на идентификацию, ментол, кислота борная, валидация методик качественного анализа.

**Key words:** identification test, menthol, acid boric, validation of methods of qualitative analysis.

З метою ідентифікації інгредієнтів у складі мазі екстемпорального виготовлення проведено оптимізацію та валідацію аналітичних методик на основі хімічних реакцій. Встановлено мінімальну граничну концентрацію ментолу та борної кислоти, що дає аналітичний ефект реакцій та оптимальне співвідношення реагентів. Доведено, що опрацьовані методики можуть бути застосовані при здійсненні контролю якості мазі Бороментол аптечного виготовлення.

С целью осуществления идентификации ингредиентов в составе мази экстемпорального изготовления проведено оптимизацию и валидацию аналитических методик на основе химических реакций. Установлено минимальную предельную концентрацию ментола и борной кислоты, которая дает аналитический эффект реакций и оптимальное соотношение реагентов. Доказано, что исследованные методики могут быть использованы при проведении контроля качества мази Бороментол аптечного изготовления.

With purpose of the realization of identification of the ingredients in the composition of extemporaneous ointment, the optimization and validation of analytical methods that based on chemical reactions were carried out. The minimum value of concentration of menthol and acid boric that shows analytical effect and the optimal quantity proportion of reagents were established. It is well-proven that the analyzed methods can be used during carrying out of quality control of the extemporaneous ointment Boromenthol.

Контроль якості виготовлених аптечних лікарських засобів має повною мірою забезпечувати їх якість відповідно до сучасних вимог. Сьогодні виготовлення та якість екстемпоральних лікарських засобів регламентуються вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ), стаття 5.N.1 «Екстемпоральні лікарські засоби» [1,2]. Також особливого значення набуває вимога щодо використання тільки валідованих аналітичних методик при проведенні аналізу. Однією з важливих частин хімічного контролю є проведення ідентифікації, що дозволяє визначити правильність обраних інгредієнтів за прописом при виготовленні.

Використання в медицині мазі Бороментол залишається актуальним в аптечному виготовленні. Бороментол застосовують як антисептичний, болезаспокійливий і відволікаючий засіб при запаленні та пересиханні слизової оболонки носу; при свербінні та невралгії [3,4].

Дослідження методик ідентифікації мазі Бороментол аптечного виготовлення проводили згідно з діючими вимогами ДФУ, з визначенням достовірності аналітичного ефекту реакції на всьому аналітичному діапазоні застосування методики від номінальної концентрації за прописом і специфічності, з використанням реагентів і реагентів, що зазначені у ДФУ. Процедуру валідації методик ідентифікації проводили згідно з стандартизованим підходом, що детально описаний О.А. Євтіфєєвою [5].

### Мета роботи

Проведення оптимізації та валідації відповідно до вимог ДФУ аналітичних методик ідентифікації мазі Бороментол аптечного виготовлення; визначення мінімальних

граничних концентрацій ментолу та борної кислоти та вибір оптимальної аліквоти для аналізу екстемпоральної лікарської форми, що дозволяють здійснити реакції ідентифікації компонентів прийнятними хімічними методами.

### Матеріали і методи дослідження

При дослідженні використовували ваги АВ 204/А METTLER TOLEDO, мазь Бороментол (виготовлення аптеки №63, м. Куп'янськ), реактиви, що відповідають вимогам ДФУ.

Для ідентифікації інгредієнтів в мазі зроблено їх витяжку і вже з фільтратом проведено хімічні реакції.

*Приготування модельних мазей і розчинів ментолу:* Точну наважку мазі  $m$  г (використовуючи рівномірний розкид концентрації ментолу від номінальної за прописом на всьому діапазоні застосування методики від 70% до 130% – 0,70; 0,85; 1,00; 1,15; 1,30 г) поміщають у конічну колбу (термостійку), додають 10 мл 95% спирту, збовтують та обережно нагрівають на водяному нагрівачі до розплавлення вазеліну. Суміш охолоджують, при цьому основа твердіє, а розчин фільтрують у мірну колбу місткістю 25 мл. Далі витяжку повторюють двічі по 5 мл і доводять об'єм розчину до мітки спиртом. Борну кислоту додають за прописом.

*Методика визначення ментолу в препараті.* 2 мл витяжки випарюють, до залишку додають 2–3 краплі розчину ваніліну в концентрованій сірчаній кислоті. З'являється малинове забарвлення [6].

*Реактив №1:* до 100 мл розчину 10 г/л ваніліну Р у 96% спирті Р обережно по краплях додають 2 мл кислоти сірчаної Р [1].

**Реактив №2:** 0,1 г ваніліну розчиняють в 10 мл концентрованої сірчаної кислоти. Розчин застосовують свіжовиготовленим [7,8].

**Приготування модельних мазей і розчинів борної кислоти.** Точну наважку мазі *m* г (використовуючи рівномірний розкид концентрації борної кислоти від номінальної за прописом на всьому діапазоні застосування методики від 80% до 120% – 0,80; 0,90; 1,00; 1,10; 1,20 г) поміщають у конічну колбу (термостійку), додають 2–3 мл води Р, збовтують, відокремлюючи від основи, обережно нагрівають на водяному нагрівачі до розплавлення вазеліну. Суміш охолоджують, при цьому основа твердіє, а розчин фільтрують у мірну колбу місткістю 25 мл. Далі витяжку повторюють двічі по 5 мл, промивають водою фільтр і доводять об'єм розчину до мітки водою. Ментол додають за прописом.

**Методики визначення борної кислоти в препараті**

1) 1 мл витяжки поміщають у фарфорову чашку та випарюють на водяному нагрівачі. До сухого залишку додають 1–2 мл 96% спирту та підпалюють. Під час горіння спостерігають полум'я з зеленим обрамленням.

2) До 1 мл витяжки додають 0,5 мл води, 2–3 краплі розчину пірокатехінового фіолетового та 1–2 краплі

аміачного буферного розчину (рН 10,0). З'являється червоне забарвлення [6].

**Результати та їх обговорення**

За вимогами вихідної методики ідентифікації ментолу в лікарській формі [6], для проведення реакції використовується реактив ваніліну, виготовлений за методикою ДФ СРСР XI видання. Однак у ДФУ реактив ваніліну має інший склад, тому для визначення впливу реактиву на ефект реакції попередньо оцінено методику, використовуючи обидва реактиви та різні аліквоти для аналізу ментолу. Визначення проводили з 1 та 2 мл витяжки ментолу. Отримані результати наведено в таблиці 1.

За результатами дослідження встановлено, що при використанні 1 та 2 мл розчинів ментолу з реактивом №1 аналітичний ефект реакції не спостерігається, методика характеризується розбіжністю результатів дослідження.

При використанні реактиву №2 отримані експериментальні дані дослідження показали позитивний аналітичний ефект реакції з аліквотою для аналізу розчину ментолу 2 мл (табл. 2).

За отриманими даними побудували криву ефективності (рис. 1).

Таблиця 1

**Результати дослідження достовірності ефекту реакції з реактивом №1**

1 мл витяжки ментолу	Вміст ментолу, мг	Кількість негативних результатів, n			Частота невиявлення, α			$\bar{\alpha}$	$\bar{P}$	R, %
		лаб. 1	лаб. 2	лаб. 3	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$			
1 мл витяжки ментолу	0,15	19	20	20	0,95	1,00	1,00	0,98	0,02	1,67
	0,17	17	19	18	0,85	0,95	0,90	0,90	0,10	10,00
	0,20	10	12	14	0,50	0,60	0,70	0,60	0,40	40,00
	0,23	9	8	10	0,45	0,40	0,50	0,45	0,55	55,00
	0,26	6	7	8	0,30	0,35	0,40	0,35	0,65	65,00
2 мл витяжки ментолу	0,28	7	9	8	0,35	0,45	0,40	0,40	0,60	60,00
	0,34	9	8	6	0,45	0,40	0,30	0,38	0,61	61,70
	0,40	6	7	8	0,30	0,35	0,40	0,35	0,65	65,00
	0,46	7	9	8	0,35	0,45	0,40	0,40	0,60	60,00
	0,52	6	6	6	0,30	0,30	0,30	0,30	0,70	70,00
Холостий	20	20	20	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	

Таблиця 2

**Результати дослідження достовірності ефекту реакції з реактивом №2**

1 мл витяжки ментолу	Вміст ментолу, мг	Кількість негативних результатів, n			Частота невиявлення, α			$\bar{\alpha}$	$\bar{P}$	R, %
		лаб. 1	лаб. 2	лаб. 3	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$			
1 мл витяжки ментолу	0,15	6	5	6	0,30	0,25	0,30	0,28	0,71	71,70
	0,17	6	5	5	0,30	0,25	0,25	0,27	0,73	73,33
	0,20	4	4	6	0,20	0,20	0,30	0,23	0,76	76,67
	0,23	3	4	5	0,15	0,20	0,25	0,20	0,80	80,00
	0,26	3	4	3	0,15	0,20	0,15	0,17	0,83	83,33
2 мл витяжки ментолу	0,28	4	4	5	0,20	0,20	0,25	0,22	0,78	78,33
	0,34	3	2	3	0,15	0,10	0,15	0,13	0,87	86,67
	0,40	1	1	1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,95	95,00
	0,46	1	1	1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,95	95,00
	0,52	1	0	1	0,05	0,00	0,05	0,03	0,97	96,67
Холостий	20	20	20	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	

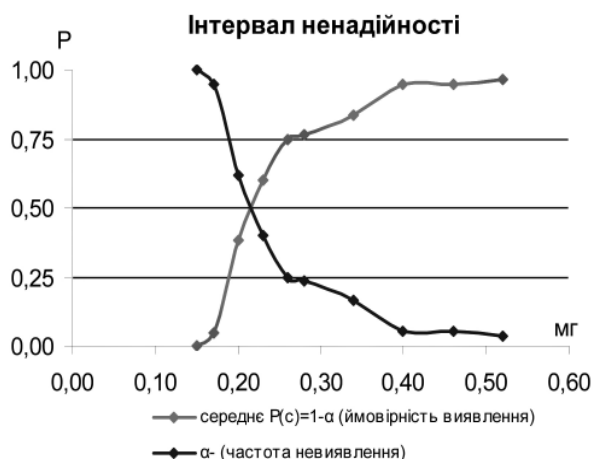


Рис. 1. «Крива ефективності» виявлення ментолу.

На рис. 1 показано, що інтервал ненадійності ефекту реакції знаходиться у межах значень концентрацій від 0,28 мг до 4,00 мг, тому запропонували використовувати аліквоту 2,00 мл витяжки ментолу, в якості реактиву ваніліну – розчин, виготовлений за методикою ДФ СРСР.

На наш погляд, для підтвердження специфічності борної кислоти в мазі достатньо провести 2 реакції: горіння полум'я з зеленим обрамленням і з пірокатехиновим фіолетовим у середовищі аміачного буферного розчину. Ці випробування є досить специфічними, нескладними за виконанням і можуть бути використані для ідентифікації борної кислоти у випробовуваній мазі в умовах аптеки.

Вивчення достовірності першої реакції проводили з аліквотою 1 мл витяжки після проведення витягу борної кислоти з основи. За умов наявності аналізованої речовини, ця реакція дає чіткий ефект і дозволяє з довірчою 95% ймовірністю виявити борну кислоту в мазі (табл. 3).

Для проведення надійної ідентифікації за цією методикою в даній лікарській формі достатньо при концентрації  $C_{0,97}$ , що дорівнює 2,00 мг/мл, використовувати аліквоту 1 мл для аналізу.

За методикою другої реакції до аліквоти витяжки додають додатково 0,5 мл води для проведення реакції.

#### Список літератури

1. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е видання. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.; – Доповнення 2. – Харків: РІРЕГ. – 2008. – 608с.
3. Справочник экстенпоральной рецептуры. Аллопатия и гомеопатия / Под ред. А. И. Тихонова. – К.: Морион, 1999. – 496 с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский – 12-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1998. – Ч. 1. – 736 с.

#### Відомості про авторів:

Мордінсон А.Ю., к. фарм. н., асистент каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ НФаУ.  
Хмельова М.О., асистент каф. управління та економіки фармації, ДНМУ.

Свтіфєєва О.А., д. фарм. н., доцент каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ НФаУ.

#### Адреса для листування:

Мордінсон А.Ю. 61001, м. Харків, пл. Повстання, 17. Тел.: (057) 731 92 76. E-mail: alluniya@ukr.net

Таблиця 3

#### Параметри статистичної оцінки результатів реакції

Вміст борної кислоти, мг	Діапазон концентрацій, %	Середні значення, %		
		$\bar{a}$	$\bar{P}$	R, %
1,60	80-120	0,22	0,78	78,30
1,80		0,10	0,90	90,00
2,00		0,03	0,97	96,70
2,20		0,03	0,97	96,70
2,40		0,02	0,98	98,30
Середнє значення, %		0,08	0,92	92,00

Враховуючи можливий вплив надлишку води на перебіг реакції, визначено чутливість реакції з 1 та 2 мл витяжки борної кислоти. Результати реакції з 1 мл аліквоти показали, що достовірний ефект реакції 86,7% не досягає 95,0%, що регламентує ДФУ. Використання 2 мл розчину для аналізу наведено в таблиці 4.

Таблиця 4

#### Параметри статистичної оцінки результатів реакції з 2 мл розчину

Вміст борної кислоти, мг	Діапазон концентрацій, %	Середні значення, %		
		$\bar{a}$	$\bar{P}$	R, %
3,20	80-120	0,10	0,90	90,00
3,60		0,05	0,95	95,00
4,00		0,05	0,95	95,00
4,40		0,03	0,97	96,70
4,80		0,00	1,000	100,00
Середнє значення, %		0,05	0,95	95,40

Достовірність результатів 95,4% свідчить про придатність методики давати надійні результати.

#### Висновки

1. Для хімічних реакцій ідентифікації ментолу та борної кислоти в мазі Бороментол аптечного виготовлення встановлено оптимальне співвідношення реагентів реакцій ідентифікації та аліквот для аналізу.

2. Опрацьовані та валідовані методики ідентифікації за статистичними показниками характеризуються прийнятними значеннями довірчої ймовірності більш ніж 95%, що відповідає вимогам ДФУ та дозволяє рекомендувати їх для здійснення якісного аналізу при контролі якості мазі Бороментол аптечного виготовлення.

5. Свтіфєєва О.А. Стандартизація підходів до оцінки хімічних методів ідентифікації речовин, які входять до складу екстенпоральних лікарських препаратів / О.А. Свтіфєєва // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – №1 (7). – С. 19–24.
6. Методы анализа лекарств / Н.П. Максютин, Ф.Е. Каган, Л.А. Кириченко, Ф.А. Митченко. – К.: Здоров'я, 1984. – 224 с.
7. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
8. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.

Надійшла в редакцію 15.03.2012 р.

Н.П. Половко, А.О. Башура, О.Г. Башура

## Дослідження гелів гуарової камеді

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** гелі, гуарова камедь, реологічні дослідження.

**Ключевые слова:** гели, гуаровая камедь, реологические исследования.

**Key words:** gels, guar gum, rheological studies.

Досліджено реологічні властивості гелів з гуаровою камеддю. Вивчено залежність структурно-механічних властивостей гелів гуарової камеді від концентрації гелеутворювача, температури, значення рН. Визначено, що оптимальними за показниками в'язкості є гелі, що містять гуар у концентрації від 1,5 до 2,5 %.

Исследованы реологические свойства гелей с гуаровой камедью. Изучена зависимость структурно-механических свойств гелей гуаровой камеди от концентрации гелеобразователя, температуры, значения рН. Определено, что оптимальными по показателям вязкости являются гели, содержащие гелеобразователь в концентрации от 1,5 до 2,5 %.

Rheological properties of gels are investigational with guar gum. Dependence of structural and mechanical properties of gels of guar gum is studied on the concentration of gelling agent, temperature, value of pH. It is certain that optimal on the indexes of viscosity are gels, containing gelling agent in a concentration from 1,5 to 2,5%.

Нині відзначено тенденцію до ширшого застосування природних гелеутворювачів [1,5]. Засоби на їх основі стабільні у широкому інтервалі рН (від 3 до 12), термостабільні, стійкі при додаванні ряду речовин (етанол, ряд кислот і лугів, електролітів тощо) [1–3,6,7].

Однією з перспективних груп гелеутворювачів є камеді: гуміарабік, камедь ріжкового дерева, ксантанова, гуарова камеді. Вивченню властивостей ксантанової камеді, камеді ріжкового дерева присвячено ряд досліджень [1–3].

### Мета роботи

Визначення структурно-механічних властивостей гелів на гуарової камеді.

### Матеріали і методи дослідження

Гуарова камедь – це полісахарид з насіння *Cyamopsis tetragonoloba*, що містить до 70% вищого полісахариду галактоманнану. За зовнішнім виглядом це порошок від білого до жовтого кольору, з характерним запахом, добре розчинний у холодній і гарячій воді, але не розчинний у більшості органічних розчинників. Використовується у косметичній, фармацевтичній і харчовій промисловості в якості гелеутворювача, структуроутворювача, загущувача та стабілізатора [6,7].

Гелеві основи з гуаровою камеддю готували з попереднім замочуванням гелеутворювача у воді очищеній при кімнатній температурі: відмірювали розраховану кількість води очищеної згідно до рецептури, додавали необхідну кількість гуару, далі перемішували при середніх обертах мішалки (40–60 об/хв) й залишали на деякий час (близько години) для набухання. Отримували прозору масу без кольору та запаху, рН 10% розчину – 6,2–6,9.

Вивчення структурно-механічних властивостей дослідних гелів проводили на віскозиметрі BROOKFIELD HB DV-II PRO (США) з використанням адаптера ротаційного типу з коаксіальними циліндрами в діапазоні градієнту швидкостей зсуву від 18,6 с<sup>-1</sup> до 93 с<sup>-1</sup> (використовували

шпіндель SC4-21 для камери об'ємом 8,3 г), в діапазоні температур від 10 до 80°C. Необхідну температуру забезпечували за допомогою ультратермостата, що входить у комплектацію віскозиметра.

### Результати та їх обговорення

Оскільки головною характеристикою загущувальної здатності полімерів є структурна в'язкість отриманих систем [1–6], досліджено залежність в'язкості гелю від концентрації гуарової камеді (рис. 1).

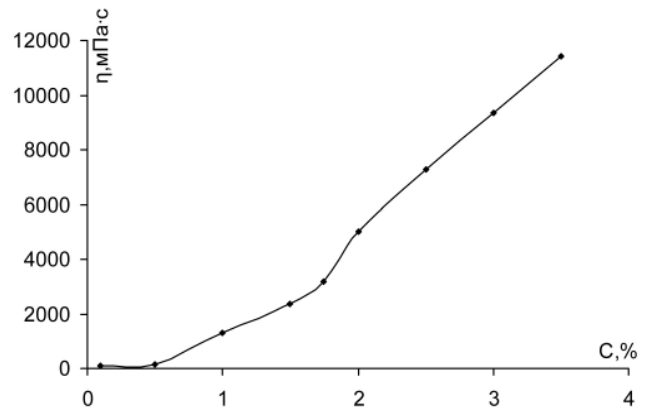
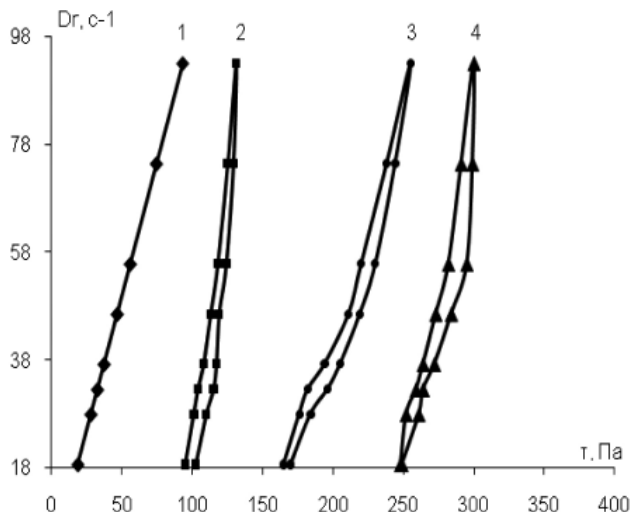


Рис. 1. Залежність структурної в'язкості гелів від концентрації гуарової камеді.

Для досліджень за наведеною технологією виготовлено гелі з концентрацією гуару від 0,1 до 3%. Результати дослідження показали, що зразки, які містили гелеутворювач в інтервалі концентрацій від 0,1 до 0,5%, характеризуються низькою структурною в'язкістю, що майже не змінювалась (рис. 1). Зі зростанням концентрації гелеутворювача в'язкість досліджуваних гелів різко підвищувалась. Зразки з вмістом камеді від 1,75 до 2,5% мали добрі споживчі характеристики (легко наносити й намазувати, не залишають липкої плівки). При подальшому зростанні вмісту гуару від 2,5% до 3% зразки мали дуже високу в'язкість і незадовільні

споживчі характеристики. Вони являли собою густу грудкоподібну масу, залишали липку плівку на шкірі, й надалі їх не досліджували.

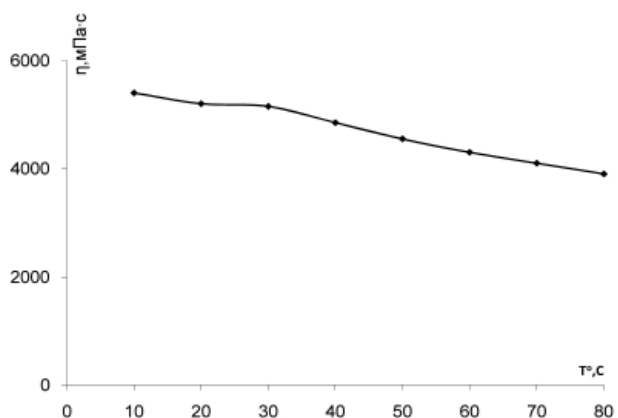
На *рис. 2*. продемонстровано залежність структурно-механічних властивостей гелів від концентрації гуару. Реограми показують, що підвищення концентрації гелеутворювача призводить до зміни типу плинущу з псевдопластичного при 1,5% до пластичного при концентраціях 2,0, 2,5 і 3,0%. Підвищення вмісту гуару призводить до появи тиксотропних властивостей, про що свідчить наявність петлі гістерезису.



*Рис. 2.* Реограми гелів гуарової камеді залежно від концентрації гелеутворювача.

*Примітка:* 1 – 1,5; 2 – 2,0; 3 – 2,5; 4 – 3%.

Для подальшого вивчення властивостей гелів обрано зразок з концентрацією гуару 2%. Важливою характеристикою гелевих систем є залежність її властивостей від температури. Бажано, щоб структурно-механічні та споживчі характеристики засобу якомога менше залежали від температури. У більшості випадків підвищення температури призводить до значного зниження реологічних показників і, відповідно, до зниження стабільності та споживчих характеристик.

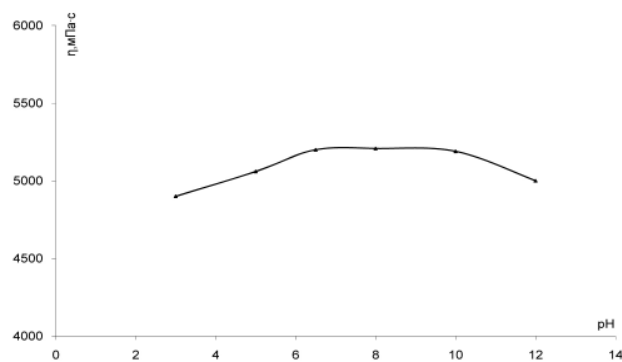


*Рис. 3.* Залежність структурної в'язкості 2% гелю гуарової камеді від температури.

Як видно з *рис. 3*, зразки гелів з гуаром майже не залежать від коливань температури в інтервалі від 10°C до 80°C, що пояснюється утворенням жорсткої спіралеподібної структури макромолекул гуару.

На наступному етапі досліджень вивчено вплив значення рН на структурну в'язкість гуарових гелів.

Як свідчать дані *рис. 4*, в'язкість гелів не значно коливається при зміні рН. Цей факт є важливим при розробці засобів, терапевтична активність яких залежить від значень рН, наприклад, засоби для лікування вугрової хвороби, хімічні пілінги (оптимальне значення рН є кислим), або лікарських засобів, що використовуються при лікуванні псоріазу, а також косметичних засобів для хімічної завивки, депіляторіїв (оптимальним є лужне значення рН).



*Рис. 4.* Залежність структурної в'язкості зразка гелю з 2% гуару від значення рН.

Максимальне значення структурної в'язкості досліджуваного зразка гелю спостерігається в інтервалі рН від 6,5 до 10,0. Структурна в'язкість експериментальних зразків плавно знижується при кислих і лужних значеннях рН. Оскільки зміни в'язкості відбуваються в невеликому інтервалі (4800–5300 мПа·с), значного впливу на структуру в'язкість коливання рН, наприклад при введенні допоміжних і біологічно-активних речовин або лікарських субстанцій у подальшому не матиме.

Для 2% гелів визначали залежність структурно-механічних властивостей від температури та швидкості зсуву. Визначення проводили при 13, 20 та 34°C, що відповідають передбачуваним температурам проведення технологічного процесу виробництва гелів, їх зберігання та застосування.

Як видно з *рис. 5*, гелі гуару є неньютонівськими рідинами, що мають пластичний тип плинущу та незначні тиксопропні властивості. При зниженні напруження зсуву в'язкість майже відразу відновлюється, що свідчить про невелику тиксотропність. Пластичність є наслідком формування складного агломерату молекулами з великою молекулярною масою шляхом утворення водневих зв'язків і закручених ланцюгів полімерів [6,7].

Зміна температур у вивченому інтервалі майже не впливає на тип плинущу, що пов'язано саме з наявністю високоупорядкованої сітки спіральних жорстких молекул.

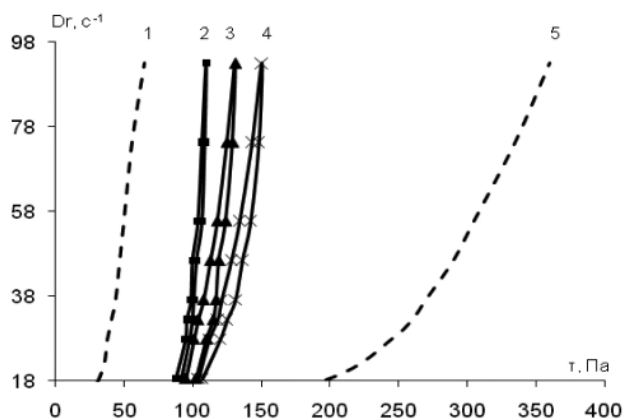


Рис. 5. Реограми гелю з 2% гуару при температурах: 2 – 34°C, 3 – 20°C, 4 – 13°C, 1, 5 – межі реологічного оптимуму.

При підвищенні температури спостерігається несуттєве зниження в'язкості та зменшення петлі гістерезису. Утворення стабільної гелевої структури зумовлює наявність стабілізуючих і суспендуючих властивостей гуару, що може бути використано при розробці складу м'яких лікарських і косметичних засобів та вказує на перспективність використання гуару при опрацюванні препаратів з різним рН, які можуть зберігатись за різних температурних умов. Реограми (рис. 5) демонструють, що отримані криві знаходяться у межах реологічного оптимуму. Це зумовлює надалі необхідні реологічні та споживчі характеристики засобу на основі цього гелеутворювача.

Дослідження залежності структурної в'язкості від градієнту швидкості зсуву аналізованих гелевих основ при температурах 20 та 34°C показало, що структурна в'язкість постійно зменшується зі збільшенням градієнту швидкості зсуву, що пов'язано зі структурою гелеутворювача (наявністю у колоїдній сітці гуару водневих комплексів слабо зв'язаних молекул, що легко руйнуються в умовах збільшення напруження зсуву).

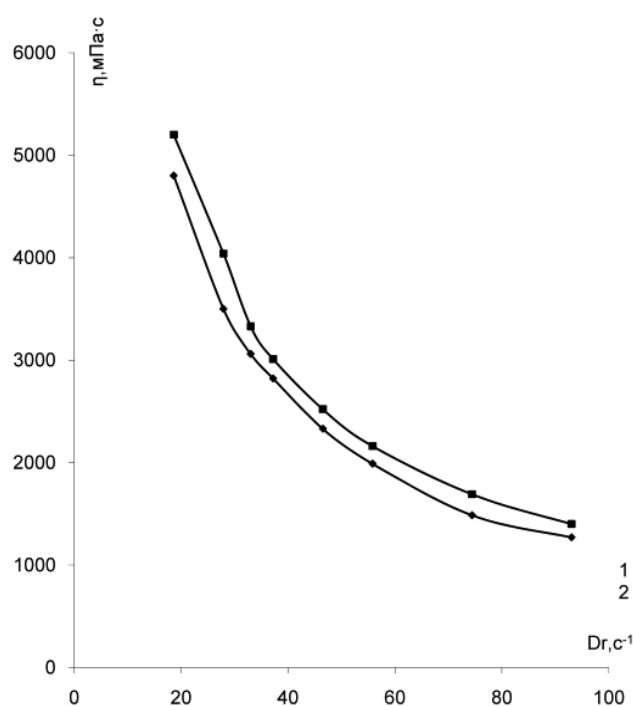


Рис. 6. Залежність структурної в'язкості гелів з гуаром від швидкості зсуву при температурі: 1 – 20°C, 2 – 34°C.

Отримані результати досліджень наведено на рис. 6.

Зниження в'язкості при певному фізичному впливі забезпечить необхідні параметри технологічного процесу та задовільні споживчі характеристики.

Отримані результати будуть використані при розробці складу гелевих основ з гуаровою камеддю.

#### Висновки

Досліджено реологічні властивості гелів гуарової камеді.

Вивчено залежність структурно-механічних властивостей гелів гуарової камеді від концентрації гелеутворювача, температури, значення рН.

#### Список літератури

1. Баранова И.И. Изучение структурно-механических и физико-химических свойств гелевых основ с ксантаном / И.И. Баранова // Запорожский мед. журн. – 2008. – №5. – С. 106–108.
2. Баранова И.И. Особенности технологии и реологическое изучение гелевых основ с камедью рожкового дерева / И.И. Баранова // Запорожский мед. журн. – 2009. – Т. 11, №2. – С. 58–60.
3. Баранова И.И. Створення оптимальних гелевих композицій за допомогою галактомананів / И.И. Баранова // Вісник фармації. – 2009. – №3 (59). – С. 46–48.
4. Goodwin J.W. Rheology for Chemists: An Introduction / J.W. Goodwin, R.W. Hughes. – Cambridge: Royal Society for Chemistry, 2000. – 290 p.
5. Lapasin R. Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Application / R. Lapasin, S. Pricl. – Glasgow: Blackie Academic and Professional, 2000. – 220 p.
6. Tantra J.S. Rheological study of guar gum / J.S. Tantra, M.S. Nagarsenker // Indian J. Pharm Sci. – 2001. – Vol. 63, №1. – P. 74–76.
7. Low viscosity hydrogel of guar gum: Preparation and physicochemical characterization / Cunha L.R. Pablyana, Castro R. Rondinelle, Francisco A.C. Rocha et al. // International J. of Biological Macromolecules. – 2005. – Vol. 37, №1–2. – P. 99–104.

#### Відомості про авторів:

Половко Н.П., д. фарм.н., доцент каф. косметології і аромології НФаУ.

Башура А.О., здобувач каф. косметології і аромології НФаУ.

Башура О.Г., д. фарм.н., професор, зав. каф. косметології та аромології НФаУ.

#### Адреса для листування:

Половко Наталя Петрівна. 61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4, каф. косметології і аромології НФаУ.

Тел. (0572) 67 87 75. E-mail: polovko.nat@mail.ru

Надійшла в редакцію 14.02.2012 р.



Г.Д. Сліпченко<sup>1</sup>, І.І. Басакіна<sup>2</sup>

## Дослідження з вибору допоміжних речовин при розробці препарату з рослинної сировини для поліпшення інтеграційної діяльності головного мозку

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

<sup>2</sup>Луганський державний медичний університет

**Ключові слова:** розробка, рослинна сировина, допоміжні речовини, фактори, математичне планування.

**Ключевые слова:** разработка, растительное сырье, вспомогательные вещества, математическое планирование.

**Key words:** development, digister, auxiliary substances, mathematical planning.

Наведено результати досліджень впливу 25 допоміжних речовин на фармакотехнологічні властивості гранулятів та основні показники якості таблеток для поліпшення інтеграційної діяльності головного мозку, отриманих методом вологої грануляції.

Представлены результаты исследований влияния 25 вспомогательных веществ на фармакотехнологические свойства гранулятов и основные показатели качества таблеток для улучшения интеграционной деятельности головного мозга, полученных методом влажной грануляции.

In the article the results of researches of influence of 25 auxiliary substances are presented on pharmacotechnological properties of granulates and basic indexes of quality of pills for the improvement of integration activity of cerebrum, got the method of moist granulation.

Останніми роками спостерігається розширення діапазону наукових пошуків щодо вивчення властивостей лікарських засобів рослинного походження та наукового обґрунтування доцільності широкого впровадження фітотерапії в клінічну медицину.

Сучасні медицина та фармація розвиваються у напрямку створення безпечних натуральних препаратів, що за ефективністю не поступаються б синтетичним лікарським засобам. За статистикою Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ), до 80% населення планети віддають перевагу препаратам природного походження. На сьогодні частка продукції з рослинної сировини у загальному обсязі світового фармацевтичного ринку складає 40–50% [1–11].

Крім лікарських засобів для отримання терапевтичного ефекту часто використовують натуральні речовини з ноотропними властивостями. Природні ноотропи через кілька тижнів після початку прийому починають покращувати когнітивні функції (запам'ятовування, концентрацію уваги), збільшують здатність до навчання, стимулюють інтелектуальні функції. Ці ефекти виникають внаслідок поліпшення кровообігу мозку, стимулювання енергетичного обміну в клітинах мозку, оптимізації біоенергетичних процесів у нервових клітинах, поліпшення роботи та захисту нейронів.

### Мета роботи

Вітчизняний фармацевтичний ринок має відносно незначний асортимент фітотерапевтичних лікарських засобів з ноотропною дією. Розширення асортименту препаратів з використанням лікарських рослин, що вирощуються в Україні, для лікування, зокрема для поліпшення інтеграційної діяльності мозку, є актуальним для вітчизняної фармацевтичної науки і практики. Тому здійснені дослідження спрямовано на створення твердої лікарської форми у вигляді таблеток на основі сухого екстракту шоломниці байкальської.

### Матеріали і методи дослідження

На підставі попередніх досліджень фармако-технологічних і фізико-хімічних властивостей діючої речовини встановлено, що отримання таблеток на основі сухого екстракту шоломниці байкальської методом прямого пресування неможливе [12]. Тому досліджено склад таблеток, що готували методом вологої гранулювання всіх компонентів з використанням у якості гранулюючого агента води та водних розчинів зв'язуючих речовин – полівінілпіролідону та метилцелюлози. Перелік допоміжних речовин, використаних при розробці таблеток, умовно згруповано згідно з призначенням і наведено у *табл. 1*.

Таблиця 1

Допоміжні речовини, що вивчали при розробці таблеток

Фактори	Рівні факторів
А – зв'язувальні речовини	a <sub>1</sub> – розчин МЦ 1% a <sub>2</sub> – вода a <sub>3</sub> – водний розчин ПВП 5% a <sub>4</sub> – водний розчин ПВП 16% a <sub>5</sub> – водний розчин ПВП 10%
В – вид формоутворювача	b <sub>1</sub> – ПВП b <sub>2</sub> – Гранулак 200 b <sub>3</sub> – Таблетоза 80 b <sub>4</sub> – Гранулак 200+МКЦ b <sub>5</sub> – Ludipress
С – розпушуючі речовини	c <sub>1</sub> – натрію крохмаль гліколят c <sub>2</sub> – натрій кроскармелоза c <sub>3</sub> – крохмаль кукурудзяний c <sub>4</sub> – крохмаль картопляний + натрій кроскармелоза c <sub>5</sub> – Plasdon S 630
Д – змащувальні речовини	d <sub>1</sub> – натрію лаурилсульфат d <sub>2</sub> – магнію стеарат d <sub>3</sub> – кислота стеаринова d <sub>4</sub> – ПЕГ 4000 d <sub>5</sub> – кальцію стеарат
Е – ковзні речовини	e <sub>1</sub> – Vitocel e <sub>2</sub> – арбоцель-300 e <sub>3</sub> – тальк e <sub>4</sub> – аеросил e <sub>5</sub> – арбоцель-80

Матриця планування експерименту

№	A	B	C	D	E	$y_1$	$y_1'$	$y_2$	$y_2'$	$y_3$	$y_3'$	$y_4$	$y_4'$	$y_5$	$y_5'$	$y_6$	$y_6'$	$y_7$	$y_7'$	$y_8$	$y_8'$	D	D'
1	a <sub>1</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>1</sub>	0,44	0,42	3,4	3,6	69	66	4	5	4	5	0,46	0,48	4	5	5,02	4,98	0,33	0,37
2	a <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>2</sub>	0,45	0,45	3,8	4,0	68	71	4	4	4	4	0,54	0,56	8	8	5,34	5,65	0,76	0,77
3	a <sub>1</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>3</sub>	0,40	0,43	2,0	2,3	65	67	5	5	5	4	0,64	0,63	5	4	4,77	4,65	0,87	0,88
4	a <sub>1</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>4</sub>	0,41	0,43	3,8	3,6	66	68	4	4	5	5	0,45	0,50	5	5	5,56	5,30	0,78	0,76
5	a <sub>1</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>5</sub>	d <sub>5</sub>	e <sub>5</sub>	0,47	0,45	2,9	3,3	78	75	4	5	4	4	0,44	0,43	4,5	8	5,40	5,55	0,67	0,63
6	a <sub>2</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>4</sub>	0,48	0,47	4,8	5,2	57	58	4	4	5	5	0,95	0,84	5	6	6,78	6,74	0,75	0,74
7	a <sub>2</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>5</sub>	0,45	0,48	4,6	4,9	56	54	5	5	5	5	0,87	0,93	4,5	5,5	6,93	6,95	0,56	0,54
8	a <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>5</sub>	e <sub>1</sub>	0,59	0,57	4,7	5,0	61	64	5	5	5	5	0,91	0,99	6,5	6	6,99	6,89	0,85	0,81
9	a <sub>2</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>5</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>2</sub>	0,61	0,64	4,7	4,5	55	57	5	4	5	5	0,55	0,60	6	6	5,40	5,47	0,64	0,67
10	a <sub>2</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>3</sub>	0,54	0,53	2,1	2,5	45	49	4	5	4	5	1,50	1,45	4	5	5,76	5,64	0,77	0,76
11	a <sub>3</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>5</sub>	e <sub>2</sub>	0,64	0,61	5,00	5,4	44	42	5	5	5	5	1,15	1,20	3,50	4,5	5,00	5,40	0,87	0,83
12	a <sub>3</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>3</sub>	0,42	0,40	5,5	6,0	37	38	5	5	5	5	1,23	1,25	4	3	6,29	6,40	0,85	0,84
13	a <sub>3</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>5</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>4</sub>	0,57	0,55	4,6	5,4	42	46	5	4	4	5	0,95	1,00	3	3	5,89	5,99	0,65	0,62
14	a <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>5</sub>	0,52	0,55	6,4	6,2	34	33	5	5	5	5	0,89	0,85	3,5	3,5	6,14	6,08	0,89	0,91
15	a <sub>3</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>1</sub>	0,55	0,50	6,7	6,6	75	74	5	5	5	5	0,52	0,49	8,5	8	6,20	6,34	0,81	0,86
16	a <sub>4</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>5</sub>	0,50	0,50	4,0	3,0	76	78	5	5	5	5	0,46	0,44	7	8,5	4,32	4,45	0,77	0,75
17	a <sub>4</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>5</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>1</sub>	0,52	0,57	3,4	3,4	77	79	5	5	5	5	0,56	0,61	9,5	7,5	4,45	4,67	0,79	0,83
18	a <sub>4</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>2</sub>	0,53	0,50	3,7	3,2	74	72	5	5	5	5	0,53	0,48	7	8	4,05	4,20	0,85	0,84
19	a <sub>4</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>5</sub>	e <sub>3</sub>	0,50	0,55	2,0	3,0	75	77	5	5	5	5	0,35	0,33	8	9	3,50	3,42	0,92	0,91
20	a <sub>4</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>4</sub>	0,59	0,60	3,5	3,3	69	69	4	5	5	4	0,69	0,69	8,5	8	3,50	3,30	0,85	0,89
21	a <sub>5</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>5</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>3</sub>	0,47	0,52	2,0	2,5	87	85	5	5	5	5	0,42	0,46	14,5	13	4,98	4,96	0,45	0,42
22	a <sub>5</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>5</sub>	e <sub>4</sub>	0,49	0,54	2,7	2,3	86	89	5	5	5	5	0,35	0,36	13	12	4,44	4,32	0,73	0,78
23	a <sub>5</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>5</sub>	0,56	0,57	2,0	2,2	89	90	4	4	4	4	0,34	0,29	14	15,5	4,76	4,84	0,66	0,67
24	a <sub>5</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>1</sub>	0,54	0,53	3,0	3,5	95	97	4	4	4	4	0,44	0,50	14	13	4,66	4,54	0,79	0,8
25	a <sub>5</sub>	b <sub>5</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>2</sub>	0,48	0,46	2,0	2,5	100	98	4	4	4	4	0,23	0,30	15	14,5	4,48	4,40	0,33	0,34

Примітки:  $y_1$  і  $y_1'$  – насипна густина г/мл,  $y_2$  і  $y_2'$  – плинність г/с;  $y_3$  і  $y_3'$  – стійкість таблеток до роздавлювання, Н;  $y_4$  і  $y_4'$  – пресування, бали;  $y_5$  і  $y_5'$  – зовнішній вигляд, бали;  $y_6$  і  $y_6'$  – стираність таблеток, %;  $y_7$  і  $y_7'$  – розпадання таблеток, хв.;  $y_8$  і  $y_8'$  – однорідність маси, %; D і D' – функція бажаності.

При розробці складу таблеток, що містили 50 мг сухого екстракту шоломниці байкальської, використовували наступні допоміжні речовини в розрахунку на одну таблетку: речовини групи А – 0,02 г, В – 0,2274 г, С – 0,05 г, D – 0,001 г та Е – 0,0016 г. Отримували таблетки масою 0,3 г, діаметром 10 мм плоскоциліндричної форми, які досліджували за показниками якості.

З метою зменшення помилки застосовано метод математичного планування експерименту, зокрема латинський квадрат третього порядку, що при проведенні 25 дослідів дозволяє встановити вплив 25 допоміжних речовин на фоні добрих у статистичному значенні властивостей. Відгуками були насипна густина, плинність таблеткової маси, зовнішній вигляд таблеток, стійкість до роздавлювання, стираність, розпадання, середня маса і однорідність маси, які оцінювали за загальноприйнятими методиками. Досліди реалізовано у 2 повтореннях [13–16]. Матриця планування експерименту та отримані результати наведено у таблиці 2.

#### Результати та їх обговорення

Отримані дані підлягали дисперсійному аналізу, після чого для значущих факторів проведено множинні порівняння результатів за допомогою критерію Дункана і відібрано кращі з них.

Результати статистичної обробки даних показали, що на показники насипної густини таблеткових мас впливають фактори в залежностях А>D>C>E>B. При цьому вплив фактора А відображається наступним ранжованим рядом:  $a_4 = a_2 = a_3 > a_5 > a_1$ . Допоміжні речовини з групи змащувальних речовин на насипну густина впливають так:  $d_5 > d_1 = d_2 > d_3 = d_4$ . Найвище значення ефективності впливу рівнів фактора С на показник насипної густини має Plasdon S 630, а найнижче – при використанні крохмалю картопляного + натрій кроскармелози. При додаванні ковзних речовин найвищі значення отримували при використанні кремнію діоксиду, а найнижчі спостерігали при введенні до таблеткової маси арбоцель-80. Вплив виду наповнювача на досліджуваний показник можна проранжувати так: таблетоза 80 = лактоза і МКЦ = Ludipress > ПВП > лактоза.

Під час досліджень встановлено, що на показник плинності таблеткових мас впливають фактори А>E>B>D, при незначущості фактору С. При цьому ранжований ряд переваг для зразків зв'язувальних речовин має такий вигляд:  $a_3 > a_2 > a_1 = a_4 > a_5$ . Серед групи ковзних допоміжних речовин залежність відображається наступним рядом: Vitocel > арбоцель-300 = аеросил = арбоцель-80 > тальк.

**Дисперсійний аналіз експериментальних даних з визначення  
фармакотехнологічних властивостей таблеток, отриманих методом вологої грануляції**

Джерело дисперсії	Кількість ступенів свободи	Сума квадратів	Середні квадрати	F <sub>експ.</sub>	F <sub>0,05</sub>	Гіпотеза Н <sub>0</sub>
<b>у<sub>1</sub> – насипна густина</b>						
Фактор А	4	0,07	0,02	43,9316	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	0,02	0,00	10,4528	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	0,022	0,005477	12,9200	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	0,024	0,005947	14,0259	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор E	4	0,021	0,005212	12,2924	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	0,03	0,006547	15,4410		
Похибка	25	0,01	0,00			
Загальна сума	49	0,20				
<b>у<sub>2</sub> – плинність</b>						
Фактор А	4	65,2200	16,30	155,2790	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	2,9900	0,75	7,1267	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	1,5152	0,3788	3,6100	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	2,0692	0,5173	4,9267	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор E	4	9,7932	2,4483	23,3171	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	4,69	1,1718	11,16		
Похибка	25	2,62	0,10			
Загальна сума	49	88,9002				
<b>у<sub>3</sub> – стійкість таблеток до роздавлювання</b>						
Фактор А	4	12170,68	3042,67	1170,2577	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	416,68	104,17	40,0654	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	729,08	182,27	70,10	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	296,08	74,02	28,4692	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор E	4	1002,88	250,72	96,4307	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	414,08	103,52	39,8153		
Похибка	25	65,00	2,60			
Загальна сума	49	15094,48				
<b>у<sub>4</sub> – пресування</b>						
Фактор А	4	2,52	0,63	5,2500	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	0,72	0,18	1,5000	2,74	$\beta_j = 0$
Фактор С	4	0,92	0,23	1,9200	2,74	$\gamma_k = 0$
Фактор D	4	1,72	0,43	3,5833	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор E	4	1,52	0,38	3,1667	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	1,12	0,28	2,3333		
Похибка	25	3,00	0,12			
Загальна сума	49	11,52				
<b>у<sub>5</sub> – зовнішній вигляд</b>						
Фактор А	4	3,00	0,75	7,5000	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	1,60	0,40	4,0000	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	0,4	0,1	1,00	2,74	$\gamma_k = 0$
Фактор D	4	2	0,5	5	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор E	4	0,4	0,1	1	2,74	$\rho_r = 0$
Залишок (взаємодія)	4	0,60	0,15	1,5		
Похибка	25	2,50	0,10			
Загальна сума	49	10,5				
<b>у<sub>6</sub> – стираність таблеток</b>						
Фактор А	4	3,03	0,76	664,1298	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	0,18	0,05	40,4982	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	0,415492	0,103873	91,12	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	0,245732	0,061433	53,8886	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор E	4	0,384352	0,096088	84,2877	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	0,54	0,135623	118,9675		
Похибка	25	0,03	0,001			
Загальна сума	49	4,829672				
<b>у<sub>7</sub> – розпадання таблеток</b>						
Фактор А	4	576,10	144,03	205,7500	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	11,00	2,75	3,9286	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	34,55	8,6375	12,34	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	2,15	0,5375	0,7679	2,74	$\delta_l = 0$

Продовження таблиці 3

Фактор Е	4	15,2	3,8	5,4286	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	5,00	1,25	1,7857		
Похибка	25	17,50	0,70			
Загальна сума	49	661,5				
$y_8$ – однорідність маси						
Фактор А	4	37,16	9,29	755,2079	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	1,85	0,46	37,5115	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	1,909028	0,477257	38,80	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	1,818828	0,454707	36,9680	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор Е	4	2,809988	0,702497	57,1136	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	1,28	0,320577	26,0632		
Похибка	25	0,31	0,01			
Загальна сума	49	47,129448	9,29			
D – функція бажаності						
Фактор А	4	0,39	0,10	247,5302	2,74	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	4	0,20	0,05	123,5101	2,74	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	4	0,155548	0,038887	97,71	2,74	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	4	0,097468	0,024367	61,2236181	2,74	$\delta_l \neq 0$
Фактор Е	4	0,042388	0,010597	26,6256281	2,74	$\rho_r \neq 0$
Залишок (взаємодія)	4	0,37	0,092022	231,211055		
Похибка	25	0,01	0,0004			
Загальна сума	49	1,264138				

Серед наповнювачів найвищі результати плинності забезпечує використання лактози та суміші лактози з МКЦ і незначно поступаються ПВП, таблетоза-80 та Ludipress, що мали дуже схожі результати під час проведення експерименту. При використанні групи змащуючих речовин лідируючі позиції посідав ПЕГ-4000.

Порівняння середніх значень результатів показників стійкості таблеток до роздавлювання можна представити наступною залежністю:  $A > E > C > B > D$ . Ранжований ряд досліджуваного показника для групи зв'язувальних речовин має наступний вигляд  $a_5 > a_4 > a_1 > a_2 > a_3$ . Вивчені ковшні речовини, визначені за їх впливом на міцність отриманих таблеток, можна розмістити в такій послідовності:  $e_1 > e_2 > e_5 = e_4 > e_3$ . Отже, найкращі результати отримано для таблеток, що містили Vitocel, незадовільний результат спостерігали при додаванні тальку. Здійснені дослідження і підрахунки дозволили також визначити лідерів серед групи С (розпушуючих речовин). Найміцніші таблетки містять натрій кроскармелозу, найнижчі значення відзначено при додаванні натрію крохмаль глюколяту. Ранжований ряд для наповнювачів має наступний вигляд: Ludipress > ПВП = лактоза = таблетоза-80 = лактоза і МКЦ. Для фактора D найкращі результати забезпечує використання ПЕГ-4000 та кальцію стеарату.

На показник зовнішнього вигляду таблеток статистично значущо впливають фактори  $A > D > B$  при незначущості факторів С та Е. Множинні порівняння фактора А дозволили встановити наступну залежність:  $a_2 = a_3 = a_4 > a_1 = a_5$ , для фактора D –  $d_4 = d_5 > d_1 = d_2 = d_3$ , для фактора В –  $b_1 > b_2 = b_3 = b_4 = b_5$ .

На показник зовнішнього вигляду таблеток статистично значущо впливають фактори  $A > D > E$  при незначущості факторів В і С.

Згідно дисперсійного аналізу показників однорідності

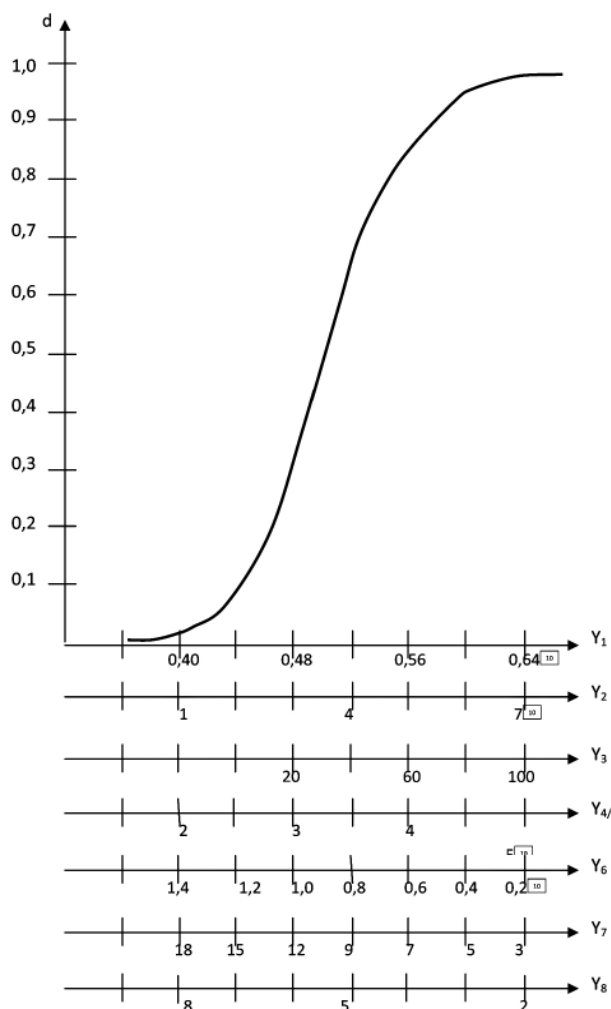


Рис. 1. Функція бажаності.

дозування отриманих таблеток, впливають усі 5 груп допоміжних речовин:  $A > E > C > B > D$  з наступними ранжованими рядами переваг:  $a_4 > a_5 > a_1 > a_3 > a_2$ ;  $e_2 = e_3 > e_4 > e_1 = e_5$ ;  $c_1 = c_3 > c_5 = c_2 > c_4$ ;  $b_4 = b_5 > b_1 = b_3 > b_2$ ;  $d_2 = d_3 > d_4 > d_1 = d_5$ .

На стираність таблеток статистично значущо впливають всі 5 факторів, ранжований ряд яких має наступний вигляд:  $A > C > E > D > B$ . При цьому найкращі показники стираності при використанні зв'язувальних речовин отримували при додаванні 10% водного розчину полівінілпірролідону, незадовільні результати – при додаванні води та 5% водного розчину полівінілпірролідону. Лідруючі позиції серед розпушувачів займає натрій кроскармелоза, з групи ковзних речовин лідерами виявились аеросил та арбоцель. Визначено, що найкращі показники стираності таблеток спостерігають при використанні комбінації гранулаку 200 з МКЦ та натрію лаурилсульфату у якості змащувальної речовини.

Дисперсійний аналіз показників розпадання таблеток свідчить про статистичну значущість усіх факторів, крім D. Так, ранжований ряд зв'язувальних речовин має наступний вигляд:  $a_2 = a_3 > a_1 > a_4 > a_5$ . Серед розпушувачів речовин залежність має наступний вигляд:  $c_1 = c_3 = c_4 = c_5 > c_2$ . Аналітична оцінка групи фактору E за їх впливом на досліджуваний показник вказує на наступну залежність:  $e_3 = e_4 = e_5 > e_2 > e_1$ .

Враховуючи обставину, що при розгляді ряду переваг по кожному з відгуків у деяких випадках отримано суперечливі результати, для вибору оптимального

складу використано узагальнений показник – функцію бажаності (рис. 1). Для цього всі значення відгуків переводили у безрозмірні величини та проводили дисперсійний аналіз.

Порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів показало, що за сукупністю всіх відгуків з використанням функції бажаності ряд переваг можна відобразити наступними залежностями:  $a_4 > a_3 > a_2 > a_1 > a_5$ ;  $b_4 > b_3 = b_2 > b_5 > b_1$ ;  $c_2 = c_3 > c_1 > c_4 > c_5$ ;  $d_5 > d_2 = d_3 > d_4 = d_1$ ;  $e_3 > e_4 > e_1 = e_5 > e_2$ . Отже, для подальших досліджень відібрано 16% водний розчин ПВП для використання у якості зв'язувальної речовини, суміш гранулаку 200 з МКЦ у якості наповнювачів, натрію кроскармелози та крохмалю кукурудзяного як розпушувальних речовин, кальцію стеарат як змащувальної речовини, тальк та аеросил у якості ковзних речовин.

#### Висновки

За допомогою математичного планування експерименту встановлено вплив 25 допоміжних речовин різних груп на основні фармако-технологічні властивості мас для таблетування та таблеток, що дозволило зменшити кількість експериментальних досліджень та отримати інформацію про взаємодію між факторами.

Визначено 7 допоміжних речовин для подальших досліджень з метою розробки оптимального складу таблеток на основі сухого екстракту шоломниці байкальської.

#### Список літератури

1. Адекенов С.М. Современное состояние и перспективы производства отечественных фитопрепаратов / Адекенов С.М. // Российские аптеки. – 2003. – №5. – С. 17–19.
2. Компендиум 2008 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2008. – 2270 с.
3. Фітодовідник / [Бензель Л.В., Олійник П.В., Бабій В.Є., Бензель І.Л.] – Львів: Галицька Видавнича Спілка, 2004. – 292 с.
4. Бурчинський С.Г. Нові аспекти фармакотерапії психосоматичної патології / Бурчинський С.Г. // Ліки. – 2004. – №5–6. – С. 28–32.
5. Mutagenicity of comfrey (*Symphytum Officinale*) in rat liver / N. Mei, L. Guo, P. Fu, R. Heflich, T. Chen // *British Journal of Cancer*. – 2005. – V. 92. – P. 873–875.
6. Fritz W.R. Herbal Medicine / Fritz W. R., Fintelmann V. – Thieme Medical Publishers. – 2 edition. – 2000. – P. 40–46.
7. Janicki S. Dostepnosc farmaceutyczna I dostepnosc biologiczna lekow / Janicki S., Sznitowska M., Zielinski W. – Warszawa, 2001. – 242 s.
8. Wargovich M.J. Herbals, cancer prevention and health / Wargovich M.J., Woods C., Hollis D.M., Zander M.E. // *J Nutr*. – 2001. – Vol. 131 (suppl. 11). – P. 3034S–6S.
9. Donvas S.G. Liver disease in pregnancy / Donvas S.G., Meeks G.R., Phillips O.K. // *Obstet. Gynec. Survey*. – 1993. – V. 38, №9. – P. 531–536.
10. Romics I. A special terpene combination (rowatinex®) improves stone clearance after extracorporeal shockwave lithotripsy in urolithiasis patients: results of a placebo-controlled randomised controlled trial / Romics I., Siller G., Kohnen R., Mavrogenis S., Varga J., Holman E. // *Urol Int*. – 2011. – Vol. 86, №1. – P. 102–109.
11. Aldemir M. Evaluation of the efficiency of tamsulosin and Rowatinex in patients with distal ureteral stones: a prospective, randomized, controlled study / Aldemir M., Uçgöl Y.E., Kayigil O. // *Int Urol Nephrol*. – 2010. – Vol. 42, №2. – P. 325–330.
12. Сліпченко Г.Д. Розробка нових фітохімічних препаратів на основі рослинної сировини / Г.Д. Сліпченко, М.О. Казарінов, В.І. Литвиненко, Р.О. Пашнева // *Вісник фармації*. – 2007. – №4. (52) – С. 20–22.
13. Васенда М.М. Розробка складу та технології таблеток магнію аспарагіату з вітаміном В<sub>6</sub> методом прямого пресування / М.М. Васенда // *Запорозький медичний журнал* – 2009. – Т. 11, №2. – С. 64–66.
14. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / [Грошовий Т.А., Марценюк В.П., Кучеренко Л.І. та ін.] – Тернопіль: Укрмедкнига, 2008. – 367 с.
15. Маркова О.В. Оптимізація технології виробництва таблеток / О.О. Маркова, Т.А. Грошовий, В.Й. Любін, В.О. Демченко // *Фармацевтичний журнал*. – 1992. – №5–6. – С. 59–62.
16. Дмитрієвський Д.І. Вибір допоміжних речовин для отримання шипучих таблеток пульмонологічного призначення комплексної дії методом вологої грануляції / Д.І. Дмитрієвський, І.І. Басакіна, Н.А. Гербіна // *Вісник фармації*. – 2010. – №4 (64) – С. 10–12

#### Відомості про авторів:

Сліпченко Г.Д., к. фарм. н., доцент каф. заводської технології ліків НФаУ.  
Басакіна І.І., к. фарм. н., асистент каф. технології ліків, організації та економіки фармації ДЗ «ЛДМУ».

#### Адреса для листування:

Сліпченко Галина Дмитрівна. 61168, м. Харків, вул Героїв Праці, буд. 10, кв. 86.  
Тел.: (057) 268 81 28. E-mail: galinaslipchenko@ Rambler.ru

Надійшла в редакцію 15.02.2012 р.



Т.А. Германюк, С.П. Дзюбенко

## Дослідження фармацевтичного ринку антигелікобактерних препаратів та аналіз мінімізації витрат антигелікобактерної терапії

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

**Ключові слова:** *Helicobacter pylori*, ерадикація, виразкова хвороба, аналіз мінімізації витрат.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, эрадикация, язвенная болезнь, анализ минимизации затрат.

**Key words:** *Helicobacter pylori*, eradication, ulcer, cost minimization analysis.

Вивчення асортименту препаратів, що входять у схему антигелікобактерної терапії, на фармацевтичному ринку Вінницької області виявило переважну більшість препаратів іноземного виробництва, а з урахуванням торговельних найменувань і лікарських форм, цей ринок нараховував від 40,43% до 100% від зареєстрованих в Україні. За методом мінімізації витрат встановлено найбільш економічно вигідну потрібну схему лікування, вартість якої на 7-денний курс складає 65,24 грн.; в квадротерапії – 47,74 грн. Встановлено, що при застосуванні найдешевшого варіанта потрібної терапії і квадротерапії можна пролікувати 12 605 і 10 079 хворих у порівнянні з 1000 хворих, у яких застосовували найдорожчі схеми потрібної терапії і квадротерапії відповідно.

Изучение ассортимента препаратов, входящих в схему антигеликобактерной терапии, на фармацевтическом рынке Винницкой области обнаружило подавляющее большинство препаратов иностранного производства, а с учетом торговых наименований и лекарственных форм этот рынок насчитывал от 40,43% до 100% от зарегистрированных в Украине. Методом минимизации затрат установлено наиболее экономически выгодную тройную схему лечения, стоимость которой на 7-дневный курс лечения составила 65,24 грн.; в квадротерапии – 47,74 грн. Установлено, что при применении наиболее дешевых схем тройной терапии и квадротерапии можно пролечить 12 605 и 10 079 больных по сравнению с 1000 больных, у которых применяли наиболее дорогие схемы тройной и квадротерапии соответственно.

The study of the assortment of drugs which are included in the schemes of antihelicobacter therapy on the pharmaceutical market of Vinnitsa region found the overwhelming majority of foreign-made drugs, and the market of the drugs included from 40.43% to 100% medicinal forms of registered in Ukraine. Cost minimization analysis revealed the most cheapest schemes of triple therapy and quadro therapy. The value of 7-day course of triple therapy is 65,24 UAH, and quadro therapy is 47,74 UAH. Cost minimization analysis showed that in case of the application of the cheapest schemes of triple therapy and quadro therapy can be treat 12605 patients and 10079 patients compared with 1000 patients treated with the most expensive schemes triple therapy and quadro therapy, respectively.

Виразкова хвороба шлунка (ВХШ) та дванадцятипалої кишки (ВХДПК) на сьогодні залишається одним із найбільш поширених захворювань у клініці внутрішніх хвороб [3]. Доведено етіологічну роль *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) у 95% випадків дуоденальних виразок та у 90% випадків немедикаментозних виразок шлунка [7], 80% випадків хронічного гастриту (тип В), 60% – раку шлунка. Підтверджено вплив *H. pylori* на перебіг функціональної диспепсії, гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ), хронічного панкреатиту. Активно вивчають роль бактерії у виникненні чи прогресуванні патології інших систем організму [5]. Згідно з останніми рекомендаціями «Маастрихт III» (2005), до антигелікобактерної терапії першої лінії у пацієнтів працездатного віку з *H. pylori*-асоційованими виразками належить потрібна або квадротерапія [3,6].

### Мета роботи

Вивчення ринку антигелікобактерних препаратів, а також найбільш економічно вигідних препаратів, що входять до антигелікобактерної терапії першої лінії, за методом мінімізації витрат.

Для досягнення мети дослідження вирішено наступні завдання:

- 1) вивчення асортименту зареєстрованих в Україні препаратів, що використовують в ерадикаційній терапії першої лінії;
- 2) дослідження фармацевтичного ринку пропозицій даних препаратів;
- 3) встановлення наявності фірм-виробників лікарських засобів на українському фармацевтичному ринку;
- 4) проведення аналізу мінімізації витрат для даних препаратів згідно до стандартів лікування.

### Матеріали і методи дослідження

Державний реєстр лікарських засобів за 2011 рік; прайс-листи фірм-виробників антигелікобактерних препаратів; асортимент антигелікобактерних препаратів, що пропонуються фармацевтичними фірмами на фармацевтичному ринку України.

Методи дослідження: аналітичний огляд наукової літератури; аналіз матеріалів Державного реєстру лікарських засобів за 2011 рік; аналіз пропозицій антигелікобактерних препаратів на фармацевтичному ринку Вінницької області за 2011 рік; аналіз мінімізації витрат.

### Результати та їх обговорення

Аналіз асортименту і структури лікарських препаратів пантопразолу показав, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів включено 31 торгове найменування пантопразолу, 2 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (6,45%) і 29 імпортного (93,55%), 1 препарат є комбінованим (пантопразол, амоксицилін, кларитроміцин) ЛЗ (3,24%). У цьому випадку з 31 зареєстрованих торгових найменувань пантопразолу на ринку Вінницької області у 2011 році представлено тільки 20 препаратів, що складає 64,52% від загальної кількості зареєстрованих.

Аналіз асортименту і структури препаратів лансопразолу дозволив виявити, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів включено 18 торгових найменувань лансопразолу, 4 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (22,22%) і 13 імпортного (77,78%), 2 препарати є комбінованими ЛЗ (лансопраз, кларитроміцин, тинідазол) (11,11%). Отже встановлено, що на фармацевтичному ринку лансопразолу у Вінницькій області у 2011 році з 18 найменувань представлені тільки 9 препаратів, що складає 50% від загальної кількості зареєстрованих.

Аналіз асортименту і структури лікарських препаратів рабепразолу показав, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів включено 47 торгових найменувань рабепразолу, 4 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (8,51%) і 43 імпортного (77,78%), 1 препарат є комбінованим ЛЗ (рабепразол, кларитроміцин, орнідазол) (2,13%). У результаті аналізу фармацевтичного ринку рабепразолу у Вінницькій області за 2011 рік з'ясувалось, що з 47 зареєстрованих торговельних найменувань рабепразолу на ринку представлені тільки 19 препаратів, що складає 40,43% від загальної кількості зареєстрованих.

Вивчення асортименту і структури лікарських препаратів езомепразолу показало, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів включено 15 торгових найменувань езомепразолу, 4 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (26,67%) і 11 імпортного (73,33%), 1 препарат є комбінованим ЛЗ (езомепразол, амоксицилін, кларитроміцин) (6,67%). Встановлено факт, що з 15 зареєстрованих торговельних найменувань езомепразолу на ринку представлено тільки 9 препаратів, що складає 60% від загальної кількості зареєстрованих.

Аналіз асортименту і структури лікарських препаратів омепразолу виявив у Державному реєстрі лікарських засобів 2011 року 63 торгових найменування омепразолу, 8 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (12,69%) і 11 імпортного (87,31%), 8 препаратів є комбінованими ЛЗ (омепразол, кларитроміцин, амоксицилін та омепразол, домперидон) (12,69%). Виявлено тільки 36 препаратів омепразолу з 63 зареєстрованих на ринку торговельних найменувань, що складає 57,14% від загальної кількості.

Асортимент і структура лікарських препаратів кла-

ритроміцину, що в 2011 році входили до Державного реєстру лікарських засобів, з урахуванням торговельних найменувань і лікарських форм становила 80 препаратів 28 фірм виробників, серед яких 27 препаратів (33,75%) вітчизняного виробництва, 53 препарати (66,25%) іноземного, з них 6 препаратів (7,5%) – комбіновані лікарські засоби (кларитроміцин, пантопразол, амоксицилін; лансопразол, кларитроміцин, тинідазол; рабепразол, кларитроміцин, орнідазол; езомепразол, амоксицилін, кларитроміцин; омепразол, кларитроміцин, амоксицилін). Найбільшу частку зареєстрованих препаратів кларитроміцину в 2011 році серед іноземних виробників склали препарати виробництва Індії (31,25%). Тобто, у Вінницькій області у 2011 році на фармацевтичному ринку серед препаратів кларитроміцину представлено тільки 42,5% від загальної кількості зареєстрованих в Україні.

Аналіз асортименту і структури лікарських препаратів амоксициліну показав, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів включено 86 торгових найменувань амоксициліну у вигляді таблеток і капсул для орального застосування, 17 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (19,77%) і 69 імпортного (80,23%), 3 препарати (3,49%) є комбінованими лікарськими засобами (амоксицилін, пантопразол, кларитроміцин; езомепразол, амоксицилін, кларитроміцин; омепразол, кларитроміцин, амоксицилін). Аналіз фармацевтичного ринку амоксициліну в таблетованій і капсульній формах для орального застосування у Вінницькій області у 2011 році показав, що з 86 найменувань на ринку представлені тільки 53 препарати, тобто 61,63% від загальної кількості зареєстрованих.

У 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів включено 12 торгових найменувань метронідазолу у вигляді таблеток і капсул для орального застосування, 3 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (25%) і 9 імпортного (75%). Встановлено, що з 12 найменувань метронідазолу у вигляді таблеток і капсул для орального застосування на фармацевтичному ринку Вінницької області представлені тільки 10 препаратів, що складають 83,33% від загальної кількості зареєстрованих.

Дослідження асортименту і структури лікарських препаратів тетрацикліну показало, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів з урахуванням торговельних найменувань і лікарських форм включено 4 торгових найменування, 3 з яких представлені препаратами вітчизняного виробництва (75%) і 1 імпортного (25%). Аналіз фармацевтичного ринку тетрацикліну у Вінницькій області у 2011 році показав, що з 4 торгових найменувань тетрацикліну на ринку представлені тільки 2 препарати, що складають 50% від загальної кількості зареєстрованих.

У 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів з урахуванням торговельних найменувань і лікарських форм включено 13 торгових найменувань, з яких у 6 діючою речовиною є вісмуту субцитрат. Решта (7 препаратів) є комбінованими, вісмут у них представлений

у вигляді вісмуту нітрату основного. Загальна кількість торговельних найменувань вітчизняного виробництва представлена 11 препаратами (84,62%), а іноземне виробництво – 2 препаратами (15,38%). Аналіз асортименту і структури лікарських препаратів вісмуту субцитрату показав, що в 2011 році до Державного реєстру лікарських засобів з урахуванням торговельних найменувань і лікарських форм включено 6 торговельних найменувань, з яких 4 препарати (66,67%) вітчизняного виробництва і 2 (33,33%) іноземного. Встановлено, що з 6 зареєстрованих торговельних найменувань цього препарату усі 100% представлені на фармацевтичному ринку Вінницької області.

Дослідження вартості антихелікобактерної терапії методом мінімізації витрат (cost minimization analysis – СМА) встановило, що з препаратів пантопразолу мінімальну вартість на курс лікування (17,78 грн.) має препарат Золонт 40 мг №30 (КУСУМ ХЕЛТХКЕР, Індія), а найбільш затратним є Контролок 20 мг №14 (Нікомед, Німеччина) – 268,24 грн. З препаратів лансопразолу найдешевшим варіантом лікування у схемі антихелікобактерної терапії є препарат Лансопразол 30 мг №20 виробництва ТОВ «Фарма Лайф», м. Львів, Україна (21,28 грн. курс лікування), а найдорожчим є Лансопрол 15 мг №14 (НОБЕЛІ ПЛАЧ САНАІ ВЕ ТІДЖАРЕТ А.Ш., Туреччина) – 48,72 грн. Серед препаратів рабепразолу найдешевшим у схемі антихелікобактерної терапії є препарат Рабепразол 20 мг №20 виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» з вартістю курсу лікування 14,00 грн., а найдорожчим серед препаратів у дозі 20 мг в одній таблетці є препарат Паріет 20 мг №14 (Ейсаї Ко ЛТД/Сілаг АГ, Японія/Швейцарія) – 271,18 грн.; серед препаратів у дозі 10 мг в одній таблетці найдешевшим варіантом є Рабепразол 20 мг №20 виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» з вартістю курсу лікування 20,16 грн., а найдорожчим є препарат Паріет 10 мг №14 (Ейсаї Ко ЛТД/Сілаг АГ, Японія/Швейцарія) – 360,64 грн. З препаратів езомепразолу найдешевшим у схемі антихелікобактерної терапії є препарат Езолонг 20 мг №14 (Сінмедик, Індія) – курс лікування 40,18 грн., а найдорожчим є Нексіум 20 мг №14 (АстраЗенека АБ, Швеція) – 143,36 грн. Аналіз препаратів омепразолу показав, що найдешевшим варіантом лікування в схемі антихелікобактерної терапії в дозі 20 мг в 1 таблетці/капсулі є препарат Омепразол 20 мг №30 виробництва ВАТ «Борисовський завод медичних препаратів», м. Борисов, Мінська обл., Республіка Білорусь, з вартістю на курс лікування 3,36 грн., а найдорожчим є препарат Гасек-20, 20 мг №14 (Софарімекс Лда., Португалія для Мефа Лтд) – 43,96 грн. Серед препаратів омепразолу в дозі 10 мг в одній таблетці/капсулі найдешевшим варіантом є препарат Омез 10 мг №30 (Д-р Редді'с Лабораторіс Лтд, Індія) – 17,36 грн., а найдорожчим є Гасек 10, 10 мг №14 (Софарімекс Лда., Португалія для Мефа Лтд) – 71,96 грн. Серед препаратів кларитроміцину найдешевшим варіантом лікування в схемі антихелікобактерної терапії в дозі 500 мг в 1 таблетці є препарат Кларитроміцин 500 мг №10 виробництва ВАТ «Київмедпрепарат», м. Київ,

вартість курсу лікування – 53,20 грн., найдорожчим є Клацид СР 500 мг №5 (Аесіка Квінборо Лтд, Великобританія) – 294,14 грн. З препаратів кларитроміцину в дозі 250 мг в 1 таблетці найдешевшим є препарат Кларитроміцин 250 мг №10 виробництва ВАТ «Київмедпрепарат», м. Київ, вартість курсу лікування – 66,08 грн., найдорожчим є Клацид 250 мг №10 (АББОТТ СпА, Італія) – 353,64 грн. З препаратів амоксициліну найдешевшим варіантом лікування в схемі антихелікобактерної терапії в дозі 875–1000 мг в 1 таблетці є препарат Амоксицилін солютаб-нортон 1000 мг №20 (Юнімакс Лабораторіес, Індія), вартість курсу лікування – 13,30 грн., найдорожчим є Флемоклав солютаб по 875/125 мг №10 (Астеллас Фарма Юроп Б.В., Нідерланди) – 89,18 грн. Серед препаратів амоксициліну в дозі 500 мг в 1 таблетці найдешевшим препаратом є амоксицилін 500 мг №20 виробництва ЗАТ «Лекхім-Харків» з вартістю на курс лікування 13,72 грн., найдорожчим є Флемоклав солютаб 500 мг/125 мг №20 (Астеллас Фарма Юроп Б.В., Нідерланди) – 108,08 грн. Аналіз показав, що найдешевшим варіантом лікування в схемі антихелікобактерної терапії з препаратів метронідазолу є препарат Метронідазол ВАТ «Лубнифарм» 250 мг №10, вартість курсу лікування в схемі квадротерапії – 13,02 грн., у схемі потрійної терапії – 8,68 грн., найдорожчим є Флагіл 250 мг №20 (Фамар Ліон, Франція) – 43,26 грн. Серед препаратів тетрацикліну найдешевшим у схемі антихелікобактерної терапії є препарат Тетрацикліну гідрохлорид №20 виробництва ВАТ «Вітаміни» з вартістю курсу лікування 18,20 грн., найдорожчим є Тетрацикліну гідрохлорид ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» – 32,20 грн. Серед препаратів вісмуту субцитрату найдешевшим у схемі антихелікобактерної терапії є препарат Гастро-норм №40 виробництва АТ «Галичфарм», вартість курсу лікування – 13,16 грн., найдорожчим є Де-нол №56 (Астеллас Фарма Юроп Б.В., Нідерланди) – 45,08 грн.

За рекомендаціями III Маастрихтського консенсусу, в якості терапії виразкової хвороби першої лінії можна застосовувати схему потрійної терапії, що включає ІПП, кларитроміцин, амоксицилін, а також схему, що включає ІПП, кларитроміцин, метронідазол. Ерадикаційну терапію першої лінії проводять протягом щонайменше 7 днів, вона включає ІПП у стандартній дозі [1,4] (омепразол – 20 мг, пантопразол – 40 мг, рабепразол – 20 мг, лансопразол – 30 мг, езомепразол – 20 мг) двічі на добу + кларитроміцин 500 мг двічі на добу + амоксицилін 1000 мг двічі на добу або метронідазол 500 мг двічі на добу [3,6]. Також може бути призначена квадротерапія (ІПП у стандартній дозі двічі на добу + тетрациклін 500 мг 4 рази на добу + препарат вісмуту 120 мг 4 рази на добу + метронідазол 500 мг тричі на добу) протягом 7 днів [6].

Для кожного з препаратів, що входять у терапію першої лінії, за методом мінімізації витрат визначено препарати з найменшою вартістю на курс лікування (табл. 1).

Отже, найдешевший 7-денний курс потрійної терапії складається з Омепразолу 20 мг №30 ВАТ «Борисовський завод медичних препаратів», (Республіка



Таблиця 1

## Витрати на лікування при застосуванні ерадикаційної терапії першої лінії

Міжнародна номенклатурна назва	Торгова назва	Виробник	Лікарська форма	Вартість упаковки, середня оптова ціна (грн.)	Вартість курсу лікування, середня оптова ціна (грн.)
Пантопризол	Золонт	КУСУМ ХЕЛТХКЕР (Індія)	таб.40 мг №30	38,03	17,78
Лансопризол	Лансопризол	ТОВ «Фарма Лайф» (Україна)	капс.30 мг №20	30,34	21,28
Рабеппризол	Рабеппризол	ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (Україна)	таб. 20мг №20	20,06	14,00
Езомеппризол	Езолонг-20	Сінмедик (Індія)	таб. 20мг №14	40,17	40,18
Омеппризол	Омеппризол	ВАТ «Борисовський завод медичних препаратів», (Республіка Білорусь)	капс. 20 мг №30	7,24	3,36
Кларитроміцин	Кларитроміцин	ВАТ «Київмедпрепарат», (Україна)	таб.500 мг№10	38,03	53,20
Амоксициліна	амоксицилін солютаб-нортон	Юнімакс Лабораторіес (Індія)	таб. 1000мг№20	18,97	13,30
Метронідазол	Метронідазол	ВАТ «Лубнифарм» (Україна)	таб. 250 мг №10	3,11	13,02 (8,68 – у схемі потрійної терапії)
Тетрациклін	тетрацикліну гідрохлорид	ВАТ «Вітаміни» (Україна)	таб. 100мг№20	2,53	18,20
Вісмута субцитрат	Гастро-норм	АТ «Галичфарм» (Україна)	таб.120 мг№40	18,75	13,16

Білорусь), Кларитроміцину 500 мг №10 ВАТ «Київмедпрепарат», Україна), Метронідазолу 250 мг №10 ВАТ «Лубнифарм» (Україна) вартість якого складає 65,24 грн. Для квадротерапії це препарати Омеппризол 20 мг №30 ВАТ «Борисовський завод медичних препаратів», (Республіка Білорусь), Метронідазол 250 мг №10 ВАТ «Лубнифарм» (Україна), Тетрацикліну гідрохлорид 100мг №20 ВАТ «Вітаміни» (Україна), Гастро-норм 120 мг №40 АТ «Галичфарм» (Україна) вартість якої на 7-денний курс лікування складає 47,74 грн.

Найдорожчий 7-денний курс потрійної терапії складається з Паріет 10 мг №14 (Ейсаї Ко ЛТД/Сілаг АГ, Японія/Швейцарія), Клацид 250 мг №10 (АББОТТ СпА, Італія), Флемоклав солютаб по 500 мг/125 мг №20 (Астеллас Фарма Юроп Б.В., Нідерланди), вартість якого складає 822,36 грн. Для квадротерапії це препарати Паріет 10 мг №14 (Ейсаї Ко ЛТД/Сілаг АГ, Японія/Швейцарія), Флагіл 250 мг №20 (Фамар Ліон, Франція), Тетрацикліну гідрохлорид (ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод»), Де-нол №56 (Астеллас Фарма Юроп Б.В., Нідерланди), вартість якої на 7-денний курс лікування складає 481,18 грн.

Розрахункова кількість хворих, яких можуть бути проліковані (NNT – number needed to treat) [2] за схемою найдешевшого варіанта потрійної терапії складає 12 605 у порівнянні з 1000 пацієнтів за схемою найдорожчого варіанта; за схемою найдешевшого варіанта квадротерапії складає 10 079 пацієнтів у порівнянні з 1000 пацієнтів за схемою найдорожчого варіанта.

#### Висновки

1. Вивчення асортименту препаратів, що входять у схему антигелікобактерної терапії, на фармацевтичному ринку Вінницької області виявило переважну більшість препаратів іноземного виробництва: від 25% препара-

тів тетрацикліну, 33% препаратів вісмуту субцитрату, 66,25% препаратів кларитроміцину, 75% препаратів метронідазолу і 80,23% препаратів амоксициліну, до 93,55% препаратів інгібіторів протонної помпи.

2. Аналіз пропозицій на фармацевтичному ринку Вінницької області показав, що ринок антигелікобактерних препаратів з урахуванням торговельних найменувань і лікарських форм нараховував від 40,43% до 100% від зареєстрованих в Україні.

3. Дослідження фармацевтичного ринку пропозицій препаратів показало, що найбільш економічно обґрунтованим є призначення в потрійній схемі лікування Омеппризолу капс. 20 мг №30 ВАТ «Борисовський завод медичних препаратів», Республіка Білорусь, Кларитроміцину таб. 500 мг №10 ВАТ «Київмедпрепарат», Україна; Метронідазолу таб. 250 мг №10 ВАТ «Лубнифарм», Україна, вартість якої на 7-денний курс лікування складає 65,24 грн.; в квадротерапії – Омеппризолу капс. 20 мг №30 ВАТ «Борисовський завод медичних препаратів», Республіка Білорусь; Метронідазолу таб. 250 мг №10 ВАТ «Лубнифарм», Україна; Тетрацикліну гідрохлорид таб. 100 мг №20 ВАТ «Вітаміни», Україна; Гастро-норму таб. 120 мг №40 АТ «Галичфарм», Україна, вартість якої на 7-денний курс лікування складає 47,74 грн.

4. Встановлено, що за схемою найдешевшого варіанта потрійної терапії можна пролікувати 12 605 пацієнтів у порівнянні з 1000 пацієнтів за схемою найдорожчого варіанта; за схемою найдешевшого варіанта квадротерапії – 10 079 пацієнтів у порівнянні з 1000 пацієнтів за схемою найдорожчого варіанта за умови однакової ефективності застосованих схем лікування. При цьому квадротерапія коштує дешевше ніж потрійна терапія за рахунок вартості кларитроміцину.

### Список літератури

1. Антихелікобактерная терапия: что нового в III Маастрихтском соглашении? / Д. Молчанов // Медична Газета «Здоров'я України». – 2006. – №9/1. – С. 19–20.
  2. Белоусов Ю.Б. Анализ минимизации затрат терапии ВИЧ-инфекции этравирином и ралтегравиром / Белоусов Ю.Б., Афанасьева Е.В., Белоусов Д.Ю., Бекетов А.С. // Качественная клиническая практика. – 2011. – №3. – С. 38–41.
  3. Герасимова О.О. Фармакоеконічний аналіз різних режимів антихелікобактерної терапії виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки / Герасимова О.О., Загребельна Ю.М. // Рациональная фармакотерапия. – 2010. – №4. – С. 32–36.
  4. Маев И.В. Кларитромицин как неотъемлемый компонент антихелікобактерной терапии / Маев И.В., Самсонов Н.Н., Голубев Н.Н. // ФАРМАТЕКА. – 2009. – №6. – С. 22–29.
  5. Радченко О.М. Досягнення, перспективи та проблеми лікування інфекції *Helicobacter pylori* / Радченко О.М. // Рациональная фармакотерапия. – 2010. – №2. – С. 50–54.
  6. Рациональная диагностика и фармакотерапия заболеваний органов пищеварения / Под ред. проф. О.Я. Бабака, Н.В. Харченко // Справочник врача «Гастроэнтеролог». – 3-е изд., перераб. и дополн. – К.: ООО «Доктор-Медиа», 2010. – С. 64–65.
  7. Самсонов А.А. Перспективы и проблемы антихелікобактерной терапии / Самсонов А.А., Голубев Н.Н. // «Медицинский Вестник». – 2009. – №9 (478) – С. 18–35.
- 

### Відомості про авторів:

Германюк Т.А., д. мед. н., професор каф. фармації ВНМУ ім. Пирогова.

Дзюбенко С.П., асистент каф. фармації ВНМУ ім. Пирогова.

### Адреса для листування:

Германюк Тамара Андріївна. 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, каф. фармації ВНМУ ім. Пирогова.

E-mail: germanyuk\_tamara@mail.ru

---

Надійшла в редакцію 04.04.2012 р.



К.О. Хохлова, Л.І. Вишнеvsька, Т.С. Сахарова

## Маркетинговий аналіз ринку лікарських засобів із сировиною глоду для лікування хвороб системи кровообігу

Національний фармацевтичний університет

### Ключові слова:

маркетинговий аналіз, фітопрепарат, глід, кардіологія.

**Ключевые слова:** маркетинговий аналіз, фітопрепарат, боярышник, кардіологія.

**Key words:** market research, herbal drug, hawthorn, cardiology.

Проаналізовано вітчизняний і світовий фармацевтичний ринок простих і комбінованих препаратів, що містять сировину глоду. Здійснено структуризацію цих препаратів за АТС-класифікацією, встановлено країни та фірми-виробники, асортимент лікарських засобів у номенклатурі. Вивчено розподіл запатентованих у різних країнах багатокомпонентних фітопрепаратів з сировиною глоду за кількістю складових. Результати маркетингових досліджень будуть використані при розробці комбінованого лікарського засобу з сировиною глоду для профілактики і лікування ішемічної хвороби серця та атеросклерозу.

Проанализирован отечественный и мировой фармацевтический рынок простых и комбинированных препаратов, которые содержат сырье боярышника. Проведена структуризация данных препаратов согласно АТС-классификации, установлены страны и фирмы-производители, ассортимент лекарственных средств в номенклатуре. Изучено распределение запатентованных в разных странах многокомпонентных фитопрепаратов с сырьем боярышника по количеству составляющих. Результаты маркетинговых исследований будут использованы при разработке комбинированного лекарственного средства с сырьем боярышника для профилактики и лечения ишемической болезни сердца и атеросклероза.

Domestic and global pharmaceutical market of single-ingredient and multi-ingredient preparations with hawthorn was analyzed. The systematization of these preparations according to ATC-classification was conducted. The manufacturers and its countries and variety of preparations in the list were designated. The distribution of proprietary multi-ingredient preparations with hawthorn from different countries according to number of components was studied. The results of market research will be used us during development of complex preparation with hawthorn for prevention and treatment of coronary heart disease and atherosclerosis.

Хвороби системи кровообігу (ХСК) є найбільш поширеною патологією у структурі загальної захворюваності населення України. За оцінками МОЗ України, саме серцево-судинні патології щороку призводять до 6 з 10 смертей. Кожного року в Україні від серцево-судинних захворювань помирають 160 тисяч осіб. Це більше, ніж сукупна кількість випадків смерті від усіх видів раку, туберкульозу, СНІДу [1,2,6]. Нині відзначають зростання поширеності найбільш соціально значущих ХСК (атеросклерозу, артеріальної гіпертензії (АГ), ішемічної хвороби серця (ІХС)) та спричиненої ними первинної інвалідизації високого рівня, а також смертності, особливо осіб працездатного віку, що призводить до зменшення тривалості життя громадян [1,2,6].

Дані сучасної наукової літератури та досвід народної медицини свідчать, що поряд з основною терапією синтетичними лікарськими засобами (ЛЗ) допоміжне значення при терапії ХСК має фітотерапія, де особливе місце посідає сировина глоду, використовувана як у простих, так і в комбінованих препаратах [7,8].

### Мета роботи

Проведення маркетингового аналізу простих і комбінованих ЛЗ з лікарською рослинною сировиною (ЛРС) глоду, наявні на вітчизняному та світовому фармацевтичному ринку.

### Матеріали і методи дослідження

Аналіз проводили з використанням вторинної інформації – електронної версії інформаційно-пошукової

системи «Довідник лікарських засобів», дозволеної для застосування на території України (станом на 01.01.2011), електронної версії інформаційно-пошукової системи «Державний реєстр лікарських засобів України» (станом на 01.01.2012) та Компендіуму – 2009 року [3–5].

### Результати та їх обговорення

Згідно з даними наукової літератури [3–5], на початок 2012 року на фармацевтичному ринку України зареєстровано 74 торговельних назви з ЛРС глоду, з яких 39,2% (29 препаратів) складають монокомпонентні ЛЗ, 43,2% (32 препарати) є комбінованими ЛЗ та 17,6% (13 торговельних назв) – субстанції, «in bulk».

Розглянуто асортимент монокомпонентних ЛЗ з ЛРС глоду, що, згідно до класифікаційної системи АТС, належать до групи С01ЕВ04 – глікозиди глоду. Пропозиції на український фармацевтичний ринок надходять від виробників фармацевтичної продукції з 4-х країн світу, частка українських підприємств-виробників є найбільшою і складає 85% (25 препаратів), друге місце посідає Німеччина – 7% (2 препарати), третє – Німеччина спільно зі Словенією та Нідерландами – 4% (1 препарат) (рис. 1).

Вітчизняну частку номенклатури групи С01ЕВ04 на фармацевтичному ринку забезпечує 22 підприємства з 12 областей України. Найбільша кількість препаратів надходить з Донецької, Житомирської, Київської, Кіровоградської областей (табл. 1).

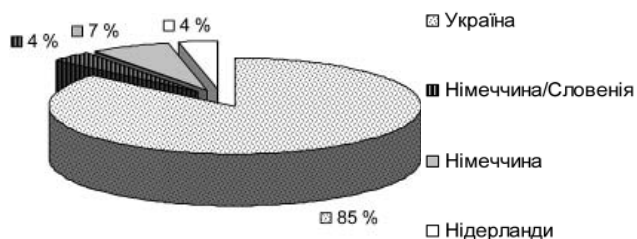


Рис. 1. Структуризація групи C01EB04 залежно від країни виробника.

Як видно з наведених даних, асортимент цих ЛЗ представлений такими лікарськими формами, як настойки, таблетки, а також ЛРС глоду різного фасування та пакування. Найбільшу вагову частку мають прості настойки (19 препаратів), усі вітчизняного виробництва.

Здійснено аналіз комбінованих ЛЗ з ЛРС глоду фармацевтичного ринку України [3–5]. Ці препарати належать до різних АТС-груп і, відповідно, мають різні показання до застосування. Для подальшого аналізу відібрано ЛЗ

Таблиця 1

**Асортимент монокомпонентних лікарських засобів з сировиною глоду**

Назва	Виробник	Форма випуску
Глід	Херкель Б.В., Нідерланди	Таблетки для розсмоктування по 100 мг №20
Глоду листя і квітки	ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир, Україна	Листя і квітки по 50 г, 60 г у пачках з внутрішнім пакетом; по 1,5 г, 2,5 г у фільтр-пакетах
Глоду настойка	ТОВ «Сарепта», м. Донецьк, Україна	Настойка по 50, 100 мл у флаконах; по 5 л у бутлях
	ДП «Агрофірма «Ян», с. Немиринці, Житомирська обл., Україна	Настойка по 40, 100 мл або по 200 мл у флаконах; по 25 мл у флаконах-крапельницях
	ПАТ Біолік», м. Ладизин, Вінницька обл., Україна	Настойка по 50, 100 мл у флаконах; по 100 мл у банках
	ОКП «Фармація», м. Дніпропетровськ, Україна	Настойка по 25, 100 мл у флаконах
	ВАТ «Лубнифарм», м. Лубни, Полтавська обл., Україна	Настойка по 25, 100 мл у флаконах
	ЗАТ Фармацевтична фабрика «Віола», м. Запоріжжя, Україна	Настойка по 25, 80, 100 мл у флаконах
	ПАТ «Фітофарм», м. Артемівськ, Донецька обл., Україна	Настойка по 25, 100 мл у флаконах скляних або полімерних
	ВАТ «Тернопільська фармацевтична фабрика», м. Тернопіль, Україна	Настойка по 25 мл у флаконах-крапельницях; по 100 мл у флаконах, у банках
	ПП «Кілафф», м. Докучаєвськ, Донецька обл., Україна	Настойка по 50, 100 мл у флаконах
	КП «Фармацевтична фабрика», м. Луганськ, Україна	Настойка по 40, 100, 200 мл у флаконах
	ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна	Настойка по 25, 100 мл у флаконах; по 100 мл у банках; по 17 кг у бутлях
	ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика», м. Житомир, Україна	Настойка по 25, 50, 100 мл у флаконах
	ТОВ «Чернігівська фармацевтична фабрика», м. Чернігів, Україна	Настойка по 25, 40, 100 мл у флаконах
	ТОВ «Славія 2000», м. Кіровоград, Україна	Настойка по 25, 40, 100 мл у флаконах
	АТ «Ефект», м. Харків, Україна	Настойка по 50, 100 мл у флаконах
	КП «Фармацевтична фабрика», м. Київ, Україна	Настойка по 25 мл у флаконах
	ДП «Межиріцький вітамінний завод» «Укрмедпром», с. Межирічка, Кіровоградська обл., Україна	Настойка по 100 мл у флаконах
	ПАТ «Ліки Кіровоградщини», м. Кіровоград, Україна	Настойка по 25 мл у флаконах
	ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», м. Харків, Україна	Настойка по 25, 50 або 100 мл у флаконах
Глоду плоди	ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир, Україна	Плоди по 75 г, 140 г у пачках з внутрішнім пакетом, по 4 г у фільтр-пакетах № 20
	ЗАТ Фармацевтична фабрика «Віола», м. Запоріжжя, Україна	Плоди по 50 г у пакетах у пачці або без пачки; по 4 г у фільтр-пакетах № 20
	КП «Фармацевтична фабрика», м. Київ, Україна	Плоди по 50 г у пачках
	ТОВ «Панацея», м. Краматорськ, Донецька обл., Україна	Плоди по 50 г у пачках з внутрішнім пакетом
	ТОВ «Адоніс», м. Київ, Україна	Плоди по 50 г у пачках з внутрішнім пакетом
Доппельгерц® актив кардіовітал	Квайссер Фарма ГмБХ і Ко. КГ, Німеччина	Таблетки, вкриті плівковою оболонкою, по 300 мг № 30, № 40
Кардиплант	Др. Вільмар Швабе ГмБХ і Ко. КГ, Німеччина	Таблетки, вкриті оболонкою, по 80 мг № 50
Плантіскардіо	Вівелхове ГмБХ спільно з Вітамед д.о.о., Німеччина / Словенія	Таблетки, вкриті оболонкою, по 450 мг № 20

з ЛРС глоду, використовувані для профілактики і лікування захворювань серцево-судинної системи. Ці препарати належать до відповідних підгруп групи С: засоби, що впливають на серцево-судинну систему, та підгрупи N05CM – інші снотворні та седативні препарати (рис. 2).

Кількість препаратів, %

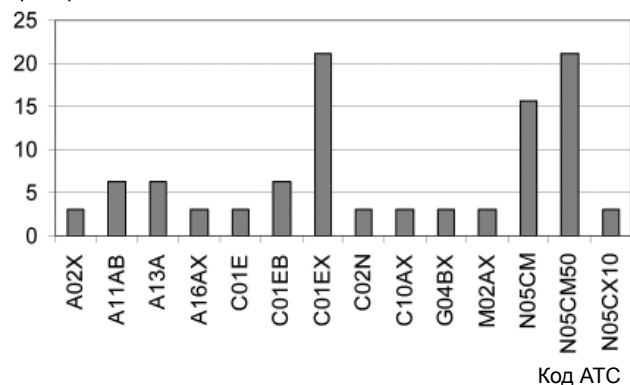


Рис. 2. Розподіл комбінованих лікарських засобів з сировиною глоду за АТС-групами.

У табл. 2 наведено асортимент комбінованих кардіологічних препаратів з ЛРС глоду. Пропозиції даних ЛЗ на фармацевтичний ринок України постачають виробники вітчизняних (17) і закордонних (7) підприємств (Німеччина, Чехія, Словенія).

Вітчизняну частку комбінованих кардіологічних ЛЗ з ЛРС глоду на фармацевтичному ринку забезпечують 11 підприємств з 7 областей України. Найбільша кількість препаратів надходить з Харківської, Київської, Донецької та Тернопільської областей. Ці препарати представлені такими лікарськими формами, як настоянки і таблетки – по 6 препаратів (25%), капсули – 4 препарати (16,6%), краплі оральні і збори – по 2 препарати (8,3%), чай – 1 препарат (4,1%). Аналіз комбінованих ЛЗ з сировиною глоду за кількістю діючих складових показав, що найбільша частка належить 7-компонентним ЛЗ – 33,3%, 3-компонентні складають 25%, 8-компонентні – 12,5%, 4- та 5-компонентні – 8,3%, 2-, 6- та 14-компонентні – по 4,2% відповідно.

Таблиця 2

**Асортимент комбінованих кардіологічних препаратів з сировиною глоду**

Доппельгерц® тонікум к	Квайссер Фарма ГмБХ і Ко. КГ, Німеччина	Розчин оральний по 250, 500, 750 або по 1000 мл, у флаконах
Збір лікувально-профілактичний № 5	КП «Фармацевтична фабрика», м. Київ, Україна	Збір по 100 г у пакетах, вкладених в пачку
Кардіюфіт	ТОВ «НВФК «Ейм», м. Харків, Україна	Настойка складна по 100 мл у банках полімерних, скляних, у флаконах полімерних
Карфісед	КП «Фармацевтична фабрика», м. Луганськ, Україна	Настойка по 100 мл у флаконах
Клімапін®	ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна	Настойка по 100 мл у флаконах, у банках
Кратал	ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ, Україна	Таблетки № 20 у блістерах; № 60 у контейнерах
Неокардил	ТОВ «Агрофарм», м. Ірпінь, Київська обл., Україна	Капсули № 30 у блістерах
Ново-пасит	АЙВЕКС Фармасьютікалз с.р.о., Чехія	Розчин оральний по 100 мл у флаконах; по 5 мл у саше № 30
Ново-пасит	ТЕВА Чех Індастріз с.р.о., Чехія	Таблетки, вкриті оболонкою, № 10, № 30 у блістерах; № 30, № 60, № 100 у флаконах
Персен® кардіо	Лек фармацевтична компанія д.д., Словенія	Капсули по 200 мг/160 мг № 16
Печавський валікардол-натур	ЗАТ «Технолог», м. Умань, Черкаська обл., Україна	Таблетки для смоктання № 10, № 10 у контурних чарункових упаковках, № 10 у контейнерах
Равісол®	ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна	Настойка по 100 мл у флаконах, у банках
Седавіт®	АТ «Галичфарм», м. Львів, Україна	Розчин оральний по 100 мл у банках або флаконах; по 200 мл у флаконах
Седавіт®	ВАТ «Київмедпрепарат», м. Київ, Україна	Таблетки № 20
Седафітон®	ПАТ «Фітофарм», м. Артемівськ, Донецька обл., Україна	Таблетки № 24, № 48, № 96 у блістерах
Седафітон® Форте	ПАТ «Фітофарм», м. Артемівськ, Донецька обл., Україна	Капсули № 12, № 24, № 48 у блістерах
Седафлорк	ТОВ «Тернофарм», м. Тернопіль, Україна	Чай по 1,5 г у фільтр-пакетах № 25
Седофлор®	ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна	Капсули № 20 у блістерах
Седофлор®	ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна	Настойка по 100 мл у флаконах № 1, у банках № 1
Трикардин серцеві краплі	ВАТ «Тернопільська фармацевтична фабрика», м. Тернопіль, Україна	Краплі по 25 мл у флаконах або у флаконах-крапельницях; по 50 мл у флаконах
Фітосед®	ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна	Настойка по 100 мл у флаконах скляних № 1, полімерних № 1, у банках № 1
Хомвіокорин® - п	Сінтера Др. Фрідріхс ГмБХ і Ко. КГ, Німеччина	Краплі для перорального застосування по 50 мл у флаконах з крапельницею № 1
Хомвіотензин®	Мауерманн-Арцнаймитель КГ, Німеччина	Таблетки № 100

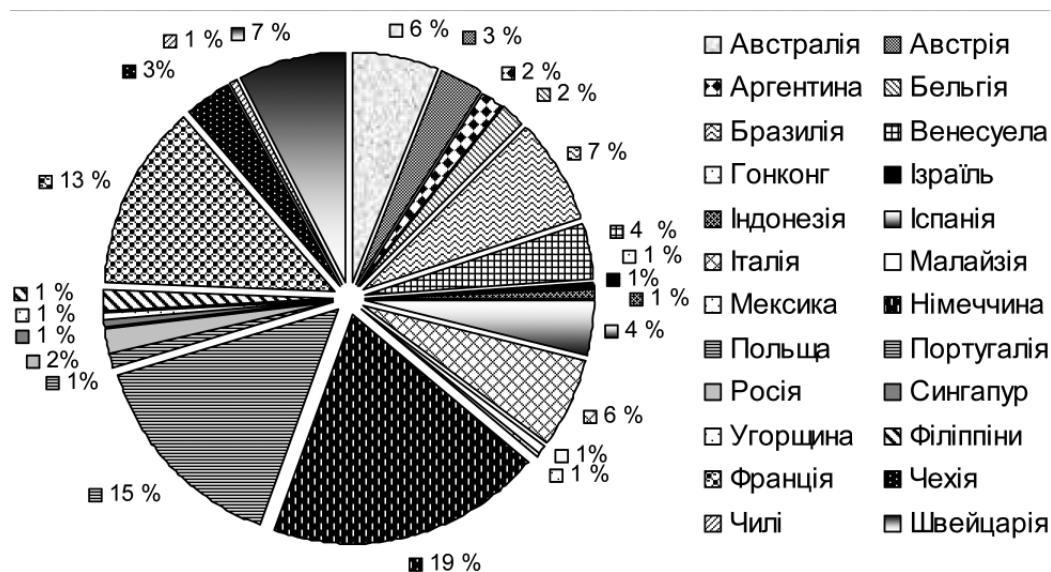


Рис. 3. Розподіл запатентованих комбінованих препаратів з сировиною глodu за країнами-виробниками.

Далі здійснено аналіз запатентованих у різних країнах багатокомпонентних ЛЗ з ЛРС глodu [8,9]. За даними джерел спеціалізованої літератури [9], станом на 2009 рік на світовому фармацевтичному ринку запатентовано 178 комбінованих препаратів з сировиною глodu від фармацевтичних виробників з 24 країн світу. Найбільшу частку препаратів, що містять сировину глodu, запатентовано виробниками Німеччини – 34 препарати (19%), Польщі – 26 препаратів (15%), Франції – 23 препарати (13%); виробники Швейцарії, Бразилії запатентували по 13 препаратів (9%), Австралії, Італії – по 11 препаратів (7%) тощо (рис. 3).

Аналіз запатентованих багатокомпонентних ЛЗ, що містять сировину глodu, за кількістю діючих компонентів показав, що найбільша частка належить 3-компонентним ЛЗ – 35%, 4-компонентні складають 18%, 2-компонентні – 16%, 5- та 6-компонентні – 9% та 8% відповідно.

Маркетингові дослідження виявили, що незважаючи на велику кількість препаратів, що містять сировину глodu, більшість з них має показання до застосування функціональні порушення серцевої системи, аритмії тощо, разом з тим, широкий спектр фармакологічної дії (гіполіпідемічна, антиатерогенна тощо) дає можливість використовувати сировину глodu в складі комплексних фітопрепаратів для лікування гіперліпідемічних захворювань, атеросклерозу, ІХС. Аналіз ринку фітозасобів, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України, показав, що лише 3 алопатичні комбіновані фітопрепарати мають показання до застосування у комплексному лікуванні ІХС: кардіофіт, («Ейм», настойка, Україна); равісол, («Червона зірка», настойка, Україна); кртал, («Борщагівський ХФЗ», таблетки, Україна). Також на

фармацевтичному ринку України представлено декілька монокомпонентних препаратів для профілактики та лікування ІХС на рослинній основі, С10АХ10, гіполіпідемічні засоби. Слід зазначити, що гомеопатичні препарати з композиції рослин, що можуть застосовуватись для лікування ІХС, широко представлені на фармацевтичному ринку України.

Сировина глodu у комплексі з іншою рослинною сировиною у раціонально дібраному співвідношенні, дозуванні та оптимальній лікарській формі здатна реалізувати основні напрямки етіопатогенезу ІХС та атеросклерозу, а також розширити асортимент фітозасобів для лікування цієї патології. Отже, актуальним є створення, розроблення технології та стандартизації ЛЗ на основі сировини глodu.

#### Висновки

Проаналізовано асортимент простих і комбінованих ЛЗ з ЛРС глodu, за країною та фірмою-виробником, лікарською формою, кількістю діючих складових, показанням до застосування. Проведено аналіз ЛЗ з ЛРС глodu, запатентовані закордонними виробниками. Визначено їх кількість у номенклатурі та розподіл за країнами-власниками патентів.

Результати досліджень свідчать, що більшість моно- та багатокомпонентних ЛЗ глodu мають показання до застосування функціональні розлади серцево-судинної системи, аритмії, неврози, АГ, тоді як сегмент ринку багатокомпонентних фітозасобів для лікування ІХС та атеросклерозу на фармацевтичному ринку України є незаповненим, що свідчить про актуальність створення нових комбінованих фітопрепаратів з урахуванням досвіду вітчизняної промисловості.

### Список літератури

1. Горбась І.М. Епідеміологія основних факторів ризику серцево-судинних захворювань / І.М. Горбась // Артеріальна гіпертензія. – 2008. – №2 (2). – Режим доступу: <http://hypertension.mif-ua.com/archive/issue-6222/article-6228/>
2. Динаміка захворюваності на хвороби системи кровообігу у жителів міста Чернівці за 1991–2010 роки / С.В. Білецький, Л.В. Боднарюк, Т.В. Казанцева, Ю.М. Бондар // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, №2 (58). – С. 168–172.
3. Електронна версія Довідника лікарських засобів, яка містить перелік лікарських засобів, дозволених до застосування в Україні станом на 01.01.2011 р. – Режим доступу: [http://www.pharma-center.kiev.ua/view/dov\\_lik\\_zas](http://www.pharma-center.kiev.ua/view/dov_lik_zas)
4. Інформаційно-пошукова система «Державного реєстру лікарських засобів України» станом на 01.01.2012 – Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua>
5. Компендиум 2009 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2009. – 2270 с.
6. Коваленко В.М. Виконання Державної програми боротьби з гіпертензіями в Україні / В. М. Коваленко, В. М. Корнацький // Український кардіологічний журнал. – 2010. – №6. – Режим доступу до журн.: <http://www.ukrcardio.org/journal.php/article/>
7. Полная энциклопедия практической фитотерапии / Т.А. Виноградова, Б.Н. Гажев, В.М. Виноградов, В.К. Мартынов; под общ. ред. проф. Б.Н. Гажева. – СПб.: Нева, 1998. – 640 с.
8. Joanne Barnes. Herbal Medicines / Joanne Barnes, Linda Anderson, David Phillipson. – Third edition. – London: PhP, 2007. – 710 p.
9. Martindale. The Complete Drug Reference / [ed. by Sean C. Sweetman]. – 36th ed. – London: PhP, 2009. – 3694 p.

### Відомості про авторів:

Хохлова К.О., аспірант каф. якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ.

Вишнеvsька Л.І., д. фарм. н., професор, НФаУ.

Сахарова Т.С., д. фарм. н., професор, кафедра клінічної фармакології з фармацевтичною опікою НФаУ.

### Адреса для листування:

Хохлова Катерина Олександрівна. 61001, м. Харків, вул. Площа Повстання, 17, ПКСФ НФаУ.

E-mail: [Katushka2106@mail.ru](mailto:Katushka2106@mail.ru)

Надійшла в редакцію 27.02.2012 р.



Л.В. Яковлева, О.Я. Міщенко, В.Ю. Адонкіна

## Комплексна оцінка витрат на фармакотерапію гострих порушень мозкового кровообігу з позиції ABC-, VEN- та частотного аналізу

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** гострі порушення мозкового кровообігу, VEN-аналіз, ABC-аналіз, частотний аналіз, аркуші призначень, фармакоекономічна оцінка.

**Ключевые слова:** острые нарушения мозгового кровообращения, VEN-анализ, ABC-анализ, частотный анализ, листы назначений, фармакоэкономическая оценка.

**Key words:** acute disorders of cerebral circulation, VEN-analysis, ABC-analysis, frequency analysis, lists of appointments, pharmaco-economic analysis.

Наведено результати комплексної оцінки витрат на фармакотерапію хворих на гострі порушення мозкового кровообігу. Для дослідження використали ABC-, VEN- та частотний аналіз. Встановлено, що загалом фармакотерапію гострих порушень мозкового кровообігу проводили відповідно до нормативних документів, оскільки 88% призначень припадає на життєво необхідні лікарські препарати. Зіставлення результатів ABC-, VEN- і частотного аналізу свідчить, що основні кошти витрачаються на життєво необхідні лікарські препарати, що і становили більшу частку призначень, але доцільним є зменшення кількості призначень метаболічних засобів з низьким рівнем доказової ефективності і високою вартістю. Значна частка коштів витрачається на лікування гострих порушень мозкового кровообігу і наслідків, спричинених цією хворобою, що зумовлює необхідність своєчасного лікування хвороб серцево-судинної системи.

Приведены результаты комплексной оценки затрат на фармакотерапию больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Для исследования использовали: ABC-, VEN- и частотный анализ. Установлено, что в целом фармакотерапию острых нарушений мозгового кровообращения проводили в соответствии с нормативными документами, поскольку 88% назначений приходится на жизненно необходимые лекарственные препараты. Сопоставление результатов ABC-, VEN- и частотного анализа свидетельствует, что основные средства расходуются на жизненно необходимые лекарственные препараты, которые и составили большую часть назначений, но целесообразным будет уменьшение количества назначений метаболитических средств с низким уровнем доказательной эффективности и высокой стоимостью. Значительная часть денежных средств расходуеться на лечение острых нарушений мозгового кровообращения и последствий, вызванных этой болезнью, что обуславливает необходимость своевременного лечения болезней сердечно-сосудистой системы.

In the article there are the results of a comprehensive assessment the cost of pharmacotherapy of patients with acute disorders of cerebral circulation (ADCC). For the study: ABC-, VEN- and frequency analysis were used. It was found that pharmacotherapy of ADCC was conducted in accordance with the regulations, because 88% of prescriptions are accounted for vital medicines. Comparison of the ABC-, VEN- and frequency analysis results shows that the major funds are spent on vital medicines, which accounted the majority of the appointments, but will be useful to reduce the number of appointments of metabolic medicines with evidence based low-efficiency and high cost. The big part of the money are spent for the ADCC treatment and for the consequences caused by the disease, that causes the need for timely treatment of the cardiovascular system diseases.

Кінець XX і початок XXI століття відзначився зростанням поширеності судинних захворювань, зокрема гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК), що є однією з найактуальніших проблем сучасної медицини і держави загалом [4,13]. Найпоширенішим серед усіх ГПМК є ішемічний інсульт (І), частка якого становить близько 80% від усіх інсультів [15]. Від ішемічного інсульту помирають близько 10–12% хворих, 20% хворих потребують постійного стороннього нагляду, і лише 20–25% осіб, які перенесли ішемічний інсульт, можуть повернутись до праці [12]. З сотні хворих, які перенесли інсульт, у перші 3–4 тижні помирають 35–40 [8]. За даними ряду досліджень, на 100 тис. населення України припадає 600 хворих з наслідками ГПМК; з них близько 60% є інвалідами [2,6]. Інсульти є причиною смерті приблизно 6–7 млн осіб щорічно [1,10,7]. ГПМК становлять велику соціально-медичну та економічну

проблему, оскільки лікування і реабілітація коштують дорого, хворі, які вже перенесли інсульт, стають непрацездатними, що завдає значних збитків державі через утрату працездатних членів суспільства, а також значні соціальні виплати у зв'язку з непрацездатністю й інвалідністю. За даними статистики, всесвітні прямі та непрямі витрати, пов'язані з ГПМК, варіюють від 40 до 100 млрд доларів США [14,16]. Тільки на медичне обслуговування пацієнтів з гострим ішемічним інсультом у розвинених країнах щороку витрачається від 4 до 6% усіх коштів, виділених на охорону здоров'я [3,11]. Виникає необхідність ефективного використання коштів, призначених на лікування ГПМК. Тому проведення комплексної оцінки витрат на терапію інсульту, результати якої використовуються для обґрунтування шляхів оптимізації, сьогодні є актуальним і необхідним.



### Мета роботи

Комплексна оцінка реальних фінансових витрат на фармакотерапію хворих з ГПМК у ЛПЗ.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

- провести ретроспективний аналіз аркушів призначень хворих на ГПМК у неврологічному відділенні лікарні м. Донецька;
- визначити переваги лікарів у призначенні фармакотерапії ГПМК за результатами частотного аналізу;
- за результатами VEN-аналізу оцінити ступінь відповідності реальної клінічної практики у неврологічному відділенні вимогам чинних нормативних документів МОЗ України;
- за допомогою ABC-аналізу провести аналіз структури і раціональності витрат на терапію ГПМК;
- провести аналіз витрат на окремі фармакотерапевтичні групи ЛП для лікування ГПМК.

### Матеріали і методи дослідження

Комплексну оцінку реальних фінансових витрат на фармакотерапію хворих з ГПМК проводили за допомогою інтегрованого аналізу: ABC-, VEN- та частотного.

ABC-аналіз передбачає ранжування лікарських препаратів (ЛП) залежно від частки витрат на кожний з них у загальній структурі витрат з виділенням трьох груп: «А» – ЛП, на які припадає 80% витрат, «В» – ЛП, витрати на які складають 15%, «С» – ЛП, витрати на які складають 5% від загальних витрат на всі досліджувані препарати. Частотний аналіз – це оцінка частоти застосування того чи іншого ЛП при лікуванні пацієнтів з певним захворюванням у лікувально-профілактичному закладі [5,9]. У здійсненій роботі роботи ABC- та частотний аналізи проводили за міжнародними непатентованими назвами (МНН). Формальний VEN-аналіз передбачає розподіл ЛП за ступенем їх значущості на 2 категорії: «V» (vital) – життєво необхідні, «N» (non-essential) – другорядні [5,9]. За наявності ЛП у діючих українських клінічних протоколах лікування ГПМК він отримував категорію «V», за відсутності – «N».

### Результати та їх обговорення

З метою оцінки ефективності витрат на терапію ГПМК проведено ретроспективний аналіз 81 аркуша призначення хворим на ГПМК у неврологічному відділенні обласної клінічної лікарні м. Донецька. У 89% пацієнтів встановлено діагноз ішемічний інсульт. Більшу частку хворих склали чоловіки – 42 хворих, жінок – 33 особи. Середній вік хворих –  $58 \pm 2,3$  роки. Середній термін перебування хворого в стаціонарі склав 16 днів. Загалом пацієнтам призначено 182 ЛП за МНН, що належать до 41 фармакологічної групи. Сума витрат на лікування 81 хворого на ГПМК склала 236 770,64 грн., тобто на одного хворого 2923,09 грн. на курс лікування.

За результатами частотного аналізу встановлено, яким препаратам надають перевагу лікарі у призначеннях. Лідерами за частотою призначень були такі МНН: натрію хлорид (V05XA03), що використовується як розчинник, призначали 127 разів (10% від кількості призначень);

гемодериват з телячої крові (A16AX10) – метаболічний засіб, призначали 76 разів (6% від кількості призначень); ноотропи: цитіколін (N06BX06) і пірацетам (N06BX03), призначали відповідно 74 і 52 рази, що складає 5,8% і 4% від кількості призначень; антихолінергічний засіб – іпідакрин (N07AA07) – 48 разів (3,8%); капіляростабілізуючий засіб – L-лізину есцинат (C05CX03), 43 рази (3,4% від кількості призначень) (рис. 1).

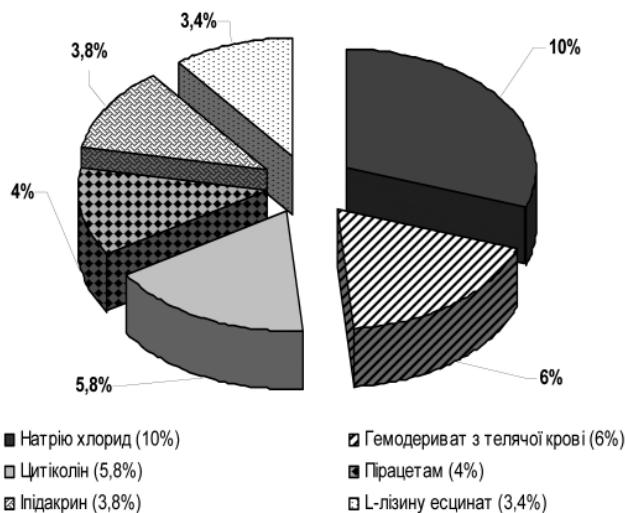


Рис. 1. Розподіл ЛП: ТОП-6 лідерів (за % від кількості призначень).

VEN-аналіз показав, що з 182 МНН, призначених для лікування хворих на ГПМК, 140 (77%) належать до категорії «V» (життєво-необхідні), 42 (23%) ЛП до категорії «N» (другорядні). До категорії V віднесли такі препарати за МНН: гемодериват з телячої крові (A16AX10 актовегін), ноотропи (N06BX06 цитіколін і N06BX03 пірацетам) та інші. Групу препаратів з категорією N склали такі ЛП: антагоністи  $H_2$ -рецепторів (A02BA02 ранітидин), відхаркуючий засіб (R05CB06 лазолван), імуностимулятор (L03AX15 тилорон) та інші МНН.



Рис. 2. Зіставлення результатів частотного та VEN аналізу ЛП, призначених хворим на ГПМК.

Зіставлення результатів частотного і VEN-аналізу (рис. 2) свідчить, що 88% усіх призначень становлять препарати категорії «V» (життєво необхідні), 12% – препарати категорії «N» (другорядні). Отже, в призначеннях лікарів для лікування ГПМК 88% становлять життєво необхідні препарати, що свідчить про раціональність призначень.

Надалі здійснено оцінку раціональності витрат за результатами ABC-аналізу, що передбачає розподіл ЛП на 3 групи за витратністю (рис. 3). Результати ABC-аналізу показали, що до групи «А» належать 15 МНН, що становлять 8% від загальної кількості МНН і 48,8% від загальної кількості призначень. Витрати на препарати групи «А» склали 191 396,07 грн., що становить 81% від загальної суми витрат на терапію ГПМК. Усі препарати групи «А» належать до категорії «V». У середньо витратній групі «В» – 81% препаратів категорії «V», що становлять 80% від загальної кількості призначень у групі «В», і відповідно 19% ЛП категорії «N» (другорядні), що становлять 20% від загальної кількості призначень у групі «В». У найменш витратній групі «С» – 73% ЛП категорії «V», що становлять 56% від загальної кількості призначень у групі «С», і відповідно 27% ЛП категорії «N», що становлять 44% від загальної кількості призначень у групі «С».

Здійснений ABC-аналіз показав, що кошти використовуються досить ефективно. Зіставлення ABC-, VEN- і частотного аналізу свідчить, що основні кошти витрачаються на життєво необхідні ЛП, що і склали більшу частку призначень.

Детальний аналіз найбільш витратної групи «А» показав, що її складають препарати, які практично є лідерами за частотою призначення (рис. 3).

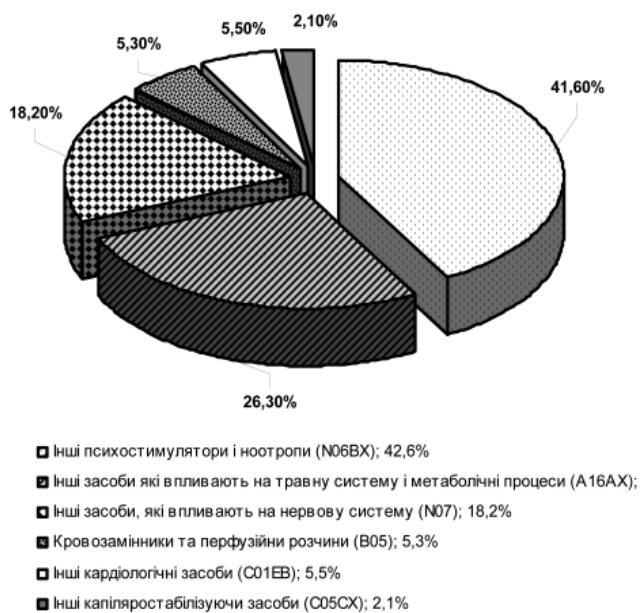


Рис. 3. Розподіл витрат (%) на ЛП найбільш витратної групи «А».

Першу позицію за витратністю посідають ЛП, що діють на нервову систему (41,6% від суми витрат групи «А»), – «N06B-Інші психостимулятори і ноотропи». Це такі ТН, як цераксон, кортексин, пірацетам, церебралізін. Другу позицію за витратністю (26,3% від суми витрат групи «А») займають засоби, що впливають на травну систему, – «A16AX-амінокислоти і їх похідні», такі як актовегін, кислота тіоктова. Третю позицію за витратністю (18,2% від суми витрат групи «А») посідають ЛП, які діють на нервову систему, – «N07-інші засоби, що впливають на нервову систему». Зазначені групи препаратів посідають відповідно другу та третю позицію за частотою призначень і належать до категорії «V» (життєво необхідні). Першу позицію за частотою призначень займає натрію хлорид, що найчастіше використовується для нормалізації водно-електролітного балансу і як розчинник.

Аналіз витрат на окремі фармакотерапевтичні групи показав, що найбільш витратними є такі групи ЛП: засоби, що діють на нервову систему (АТС-код «N»), загальна частка витрат на які склала 52,88%. Другу позицію за витратністю займають ЛП з АТС-кодом «А» (засоби, що впливають на травну систему і метаболізм), витрати на які становлять 23,5% від загальної суми. Третю позицію за витратністю посідають серцево-судинні ЛП, частка витрат на які становить 10,45%. Зазначені групи препаратів посідають першу, третю та другу позицію за частотою призначень.

Отже, аналіз витрат показав, що серед фармакотерапевтичних груп першого рівня за АТС-кодом найбільш витратними є засоби, що діють на нервову систему (АТС-код – «N»), засоби, що діють на травну систему і метаболізм: вітаміни, мінерали, амінокислоти та їх похідні та комбінації (АТС-код – «А») та серцево-судинні ЛП (АТС-код – «С»).

Отримані результати свідчать, що значні кошти витрачаються на засоби, що діють на нервову систему: ноотропи, антигіпоксанти, нейропротектори для первинної та вторинної нейропротекції, що і склали найбільшу частку витрат цієї групи, незважаючи на низький рівень доказової ефективності при ГПМК. Значна частка коштів (53%) витрачається на ефективні, але дорогі засоби, що діють на нервову систему. Проте обмежені ресурси охорони здоров'я, фінансова неспроможність пацієнтів, недостатня доказова база ускладнюють їх широке застосування. Висока частота постінсультної інвалідизації та її несприятливі соціально-економічні наслідки для пацієнта, його близьких і суспільства диктують необхідність нових медикаментозних схем для лікування ГПМК не тільки ефективніших клінічно, але й доступних економічно. Тому подальше вивчення цієї теми є актуальним сьогодні для суспільства і держави.

## Висновки

Фармакотерапію хворих на ГПМК проводили згідно з чинними нормативними документами (Протокол надання медичної допомоги, Наказ МОЗ України №487 від 17.08.2007 р.), оскільки 77% ЛП є життєво необхідними.

Основні кошти (96,6%) витрачаються на ЛП категорії V (життєво необхідні), що склали 88% призначень, але

доцільним є зменшення кількості призначень метаболічних засобів з низьким рівнем доказової ефективності та високою вартістю.

Значна частка коштів витрачається на лікування ГПМК і наслідків, викликаних цією хворобою. Тому запобігання цього недугу, зокрема своєчасне лікування хвороб серцево-судинної системи, має бути першочерговим завданням суспільства та держави у боротьбі з ГПМК.

## Список літератури

1. Виничук С.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения / С.М. Виничук, Т.М. Черенько. – К.: ООО «Комполис», 2003. – 120 с.
2. Волошин П.В. Аналіз поширеності та захворюваності на нервові хвороби в Україні / П.В. Волошин, Т.С. Міщенко, Є.В. Лекомцева // Міжнародний неврологічний журнал. – 2006. – №3 (7). – С. 9–13.
3. Волошин П.В. Профилактика мозгового инсульта / П.В. Волошин, Т.С. Мищенко // Здоров'я України. – 2002. – №5. – С. 14–17.
4. Зозуля И.С. Особенности восстановления нарушенных функций у больных мозговыми инсультами / И.С. Зозуля, В.И. Боброва // Український вісник психоневрології. – 2000. – №8. – С. 28–29.
5. Клинико-экономический анализ / [Воробьев П.А., Авксентьева М.В., Борисенко О.В. и др.]; под ред. П.А. Воробьева. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 778 с.
6. Міщенко Т.С. Епідеміологія мозкового інсульту в Україні / Т.С. Міщенко, І.В. Здесенко // Новости фармации и медицины в Украине. – 2005. – №3. – С. 5–6.
7. Перші результати виконання реєстру мозкового інсульту в Україні / Т.С. Міщенко, І.В. Здесенко, О.І. Коленко та ін. // Судинні захворювання головного мозку. – 2006. – №2. – С. 35–41.
8. Пирадов М.А. Нейрореаниматология инсульта / М.А. Пирадов // Вестник РАМН. – 2003. – №12. – С. 12–19.
9. Проект методических рекомендаций «Проведение клинико-экономического анализа потребления лекарственных средств при дополнительном лекарственном обеспечении в системе ОМС» / [П.А. Воробьев, М.В. Авксентьева, М.В. Сура и др.] // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2006. – №10. – С. 28–46.
10. Сучасні принципи діагностики та лікування хворих із гострим порушенням мозкового кровообігу: Метод. реком. / Ю.П. Зозуля, П.В. Волошин, Т.С. Міщенко та ін. – К., 2005. – 64 с.
11. Argentine C. The burden of stroke: a need for prevention / C. Argentine, M. Prencipe // Prevention of ischemic stroke. – 2000. – Vol. 21. – P. 1–5.
12. International trends in mortality from stroke, 1968–1994 / C. Sarti, D. Rastenyte, Z. Cepaitis et al. // Stroke. – 2000. – Vol. 31. – P. 1588–1601.
13. Katherleen S. Профилактика инсульта: спасение жизней во всем мире / S. Katherleen, M. Colin, B. Ruth // Український медичний вісник. – 2007. – №7–8. – С. 14–20.
14. Manica G. Prevention and treatment of stroke in patients with hypertension / G. Manica // Clinical Therapi. – 2004. – Vol. 26. – P. 631–648.
15. Stroke unit care and outcome. Results from the 2001 National Sentinel Audit of Stroke (England, Wales and Northern Ireland) / A.D. Rudd, A. Hofman, P. Irwin, D. Lowe // Stroke. – 2005. – Vol. 36. – P. 103–106.
16. What caused this transient or persisting ischaemic event? In: Stroke: a practical guide to management. / C.P. Warlow, M.S. Dennis et al. – Oxford: Blackwell Science. – 2001. – P. 223–300.

## Відомості про авторів:

Яковлева Л.В., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакоєкономіки НФаУ.

Міщенко О.Я., д. фарм. н., доцент каф. фармакоєкономіки НФаУ.

Адонкіна В.Ю., аспірант каф. фармакоєкономіки НФаУ.

## Адреса для листування:

Адонкіна Вікторія Юріївна. 83004, м. Донецьк, вул. Університетська, 118 А, кв. 48.

Тел.: (066)727 23 23.

E-mail: vidonis@yandex.ru

Надійшла в редакцію 22.03.2012 р.



Е.Н. Левик<sup>1</sup>, А.П. Колесник<sup>1</sup>, А.А. Кузьмичев<sup>2</sup>, Т.О. Христенко<sup>1</sup>

## Оценка отдаленных результатов оперативного и комплексного лечения больных раком желудка

<sup>1</sup>Запорожский государственный медицинский университет,

<sup>2</sup>Запорожский областной клинический онкологический диспансер

**Ключові слова:** рак шлунка, виживаність, оперативне лікування, хіміотерапія.

**Ключевые слова:** рак желудка, выживаемость, оперативное лечение, химиотерапия.

**Key words:** stomach cancer, survival, surgical treatment, chemotherapy.

Захворюваність і смертність від раку шлунка зумовлюють актуальність порушеної проблеми в Україні та усьому світі. Проаналізовано дані хворих, які проходили лікування в Запорізькому обласному клінічному онкологічному диспансері з 2000 по 2011 рік. Отримані результати свідчать про необхідність розробки заходів, спрямованих на ранню діагностику раку шлунка в Україні та Запорізькій області зокрема. Також при проведенні лікування пацієнтам з раком шлунка слід приділяти більшу увагу використанню комплексного лікування. Серед різних варіантів хірургічного лікування найбільш ефективними є операції із застосуванням лімфодиссекції D2 рівня.

Заболеваемость и смертность от рака желудка обуславливают актуальность затронутой проблемы в Украине и во всем мире. Проанализированы данные больных, проходивших лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере с 2000 по 2011 год. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки мероприятий, направленных на раннюю диагностику рака желудка в Украине и Запорожской области в частности. Также при проведении лечения пациентам с раком желудка следует уделять большее внимание использованию комплексного лечения. Среди различных вариантов хирургического лечения наиболее эффективными являются операции с применением лимфодиссекции D2 уровня.

Morbidity and mortality from stomach cancer causes actuality of this problem in Ukraine and throughout the world. The article analyzed the data of patients treated at the Zaporozhye Regional Clinical Oncology Dispensary from 2000 to 2011. The results indicate the need for interventions aimed at early diagnosis of stomach cancer in Ukraine and the Zaporozhye region, in particular. Also, during the treatment of patients with gastric cancer should pay more attention to the use of complex treatment of patients. Among the different variants for surgical treatment of the most effective they are an operation with D2 lymph node dissection level.

Рак желудка остается в центре внимания медицинской науки и является одной из важнейших медицинских и социально-экономических проблем. Ежегодно в мире раком желудка заболевают более 1 млн человек. Украина принадлежит к странам, где рак желудка является одной из самых распространенных злокачественных патологий. Заболеваемость раком желудка на Украине в 2010 году составляла 10 975 больных (23,97 случаев на 100 тыс. населения), и только 44,4% пациентам проведено специальное лечение. В 2010 году в Украине от рака желудка умерли 8478 человек. В 2009 году 62,2% больных не прожили 1 год после установления диагноза рака желудка [1].

Рак желудка – сложное для диагностики и лечения заболевание. В качестве радикальных операций в хирургии рака желудка могут применять субтотальные резекции (дистальные или проксимальные) и гастрэктомии [2]. В Украине до 30–40% больных раком желудка впервые обращаются за медицинской помощью уже с запущенной, четвертой стадией болезни, у 20% выполнить операцию невозможно в связи с сопутствующими заболеваниями [3,4].

Агрессивное течение рака желудка, ранняя диссеминация требуют усовершенствования методов лечения. Пути улучшения отдаленных результатов лечения рака желудка много авторов закономерно связывают с раз-

работкой комбинированных и комплексных методов лечения, поскольку в этом направлении абсолютно очевидна необходимость дополнить хирургическое лечение другими видами влияния. Общепринятым подходом к лечению больных раком желудка является назначение комбинаций противоопухолевых препаратов, эффект при этом суммируется и достигает 40–50% [5,6]. Однако не у всех пациентов удается достичь эффекта при применении данного варианта лечения. Поэтому точное определение риска продолжения заболевания может быть главным для выбора наиболее адекватного объема операции и решения вопроса о назначении адьювантной терапии [7].

### Цель работы

Изучение и оценка отдаленных результатов оперативного и комплексного лечения больных раком желудка I–IV стадий.

### Материалы и методы исследования

Изучены данные 280 больных раком желудка, которым с 2000 по 2011 год проведено оперативное лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере, из них 186 мужчин (66,4%) и 94 женщины (33,6%). Возраст пациентов – от 28 до 80 лет. Больных с I стадией 55 (19,6%), II – 106 (37,9%), III – 90 (32,1%),

29 больных (10,4%) – с IV стадией заболевания. Из всех больных, включенных в исследование, 208 пациентов получили только оперативное лечение, а 72 больным проведена также адъювантная полихимиотерапия. Пациентам проведено оперативное лечение в объеме гастрэктомии, субтотальной дистальной резекции желудка и субтотальной проксимальной резекции желудка. Среди больных, которым произведена гастрэктомия, выделили пациентов со стандартной гастрэктомией – 42 человека (15%), 36 больных (12,9%) после гастрэктомии с уровнем лимфодиссекции D2 и 20 пациентов (7,1%) после комбинированной гастрэктомии. В группе больных, получивших хирургическое лечение в объеме субтотальной дистальной резекции, изучены пациенты с произведенной стандартной субтотальной дистальной резекцией – 97 человек (34,6%), больные с субтотальной дистальной резекцией и уровнем лимфодиссекции D2 – 50 человек (17,9%), а также 14 человек (5%) после комбинированной субтотальной дистальной резекции. Субтотальная проксимальная резекция желудка произведена 21 пациенту (7,5%) (рис. 1).

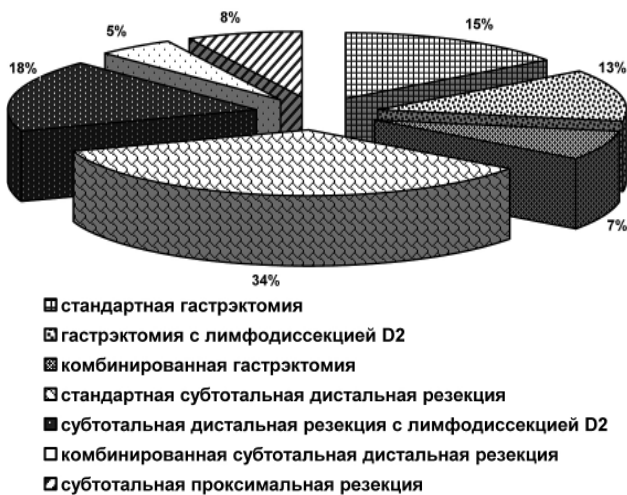


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от вида операции, произведенных с 2000 по 2011 год.

Объем операции определяли по протоколам операций, в операционных журналах. Для оценки выживаемости использовали метод Каплана-Майера. Сравнение кривых выживаемости проводили с помощью логрангового критерия.

### Результаты и их обсуждение

Общая 5-летняя выживаемость пациентов составила 44,7%.

Анализ полученных данных показал, что у больных с III стадией при использовании адъювантной полихимиотерапии результаты выживаемости не отличались от результатов выживаемости пациентов, которым проводили только хирургическое лечение (медиана выживаемости составила 27,3 и 25,3 мес. соответственно). Разница в показателях выживаемости у больных раком желудка II и IV стадий существенна. У пациентов со II

стадий рака желудка, которым проведено только оперативное лечение, и в группе больных с дополнительной адъювантной химиотерапией медиана выживаемости составила 55,6 и 83,4 мес. соответственно. У пациентов с IV стадией аналогичные показатели составили 10,2 и 24,0 мес. (рис. 2).

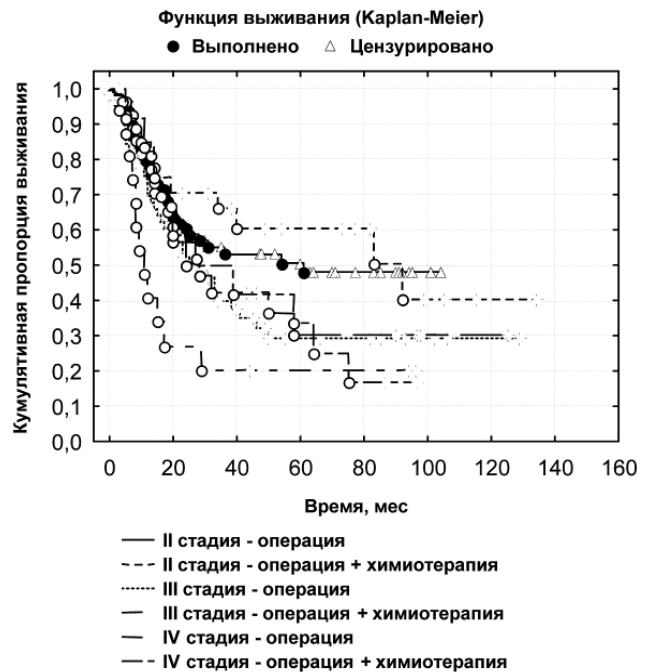


Рис. 2. Выживаемость больных раком желудка II–IV стадий в зависимости от проведенного лечения.

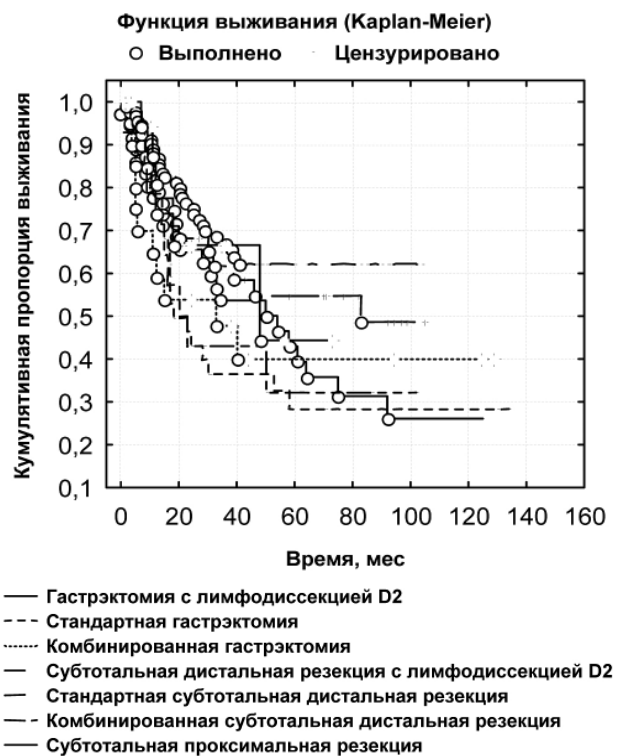


Рис. 3. Выживаемость больных раком желудка II–IV стадий в зависимости от объема выполненной операции.

Сравнить показатели выживаемости больных раком желудка I стадии не удалось в связи с малым количеством пациентов, которые получали полихимиотерапию.

При изучении выживаемости пациентов после гастрэктомии определены лучшие показатели выживаемости при выполнении гастрэктомии с уровнем лимфодиссекции D2 по сравнению с комбинированной и стандартной гастрэктомией (медианы выживаемости составили 50, 26,6 и 17,9 мес. соответственно).

Сравнение показателей выживаемости пациентов с выполненной субтотальной дистальной резекцией желудка показало существенную разницу в показателях выживаемости у больных после субтотальной дистальной резекции с уровнем лимфодиссекции D2 (медиана выживаемости – 74,8 мес.), у пациентов после стандартной субтотальной дистальной резекции (медиана выживаемости не достигается) и у больных после комбинированной субтотальной дистальной резекции (медиана выживаемости – 20 мес.). У пациентов после субтотальной проксимальной резекции показатели выживаемости (медиана выживаемости – 40,4 мес.) значительно

ниже таковых после субтотальной дистальной резекции с уровнем лимфодиссекции D2, однако существенно выше показателей выживаемости у больных после комбинированной субтотальной дистальной резекции (рис. 3).

#### Выводы

Медиана выживаемости у больных раком желудка I–IV стадий, прооперированных в ЗОКОД с 2000 по 2011 года, составила в среднем 50,6 месяцев. Пятилетняя выживаемость составила 44,7%.

Проведение адьювантной полихимиотерапии значительно увеличивает продолжительность жизни больных раком желудка II и IV стадий.

Выполнение гастрэктомии и субтотальной дистальной резекции желудка с уровнем лимфодиссекции D2 улучшает выживаемость больных раком желудка.

Необходимо продолжить исследования с детализацией критериев, от которых зависит выживаемость больных раком желудка после оперативного и комплексного лечения.

#### Список литературы

1. Рак в Украине, 2009–2010 / З.П. Федоренко, А.В. Гайсеренко, Л.О. Гулак [и др.] // Бюллетень национального канцер-реестра Украины. – 2010. – №12. – С. 37.
2. Бондарь Г.В. Рак желудка: профилактика, диагностика и лечение на современном этапе / Г.В. Бондарь, Ю.В. Думанский, А.Ю. Попович, В.Г. Бондарь // Онкология. – 2006. – Т. 8, №2. – С. 171–175.
3. Герасимова Л.М. Превентивный алгоритм распознавания рака желудка / Л.М. Герасимова, А.Ю. Шалькова, Н.В. Красносельский // Клиническая онкология. – 2011. – Специальный выпуск №II. – С. 94.
4. Болюх Б.А. Досвід діагностики та лікування хворих на рак проксимального відділу шлунка / Б.А. Болюх, С.М. При-  
туляк, С.П. Шевня, О.В. Стрижалковський, С.А. Лисенко // Онкология. – 2011. – Т. 13, №1. – С. 82–84.
5. Думанский Ю.В. Отдаленные результаты комбинированного лечения больных с местно-распространенным раком дистального отдела желудка / Ю.В. Думанский, Д.Л. Влащенко // Онкология. – 2009. – Т. 11, №3. – С. 192–196.
6. Базин И.С. Рак желудка: значение проблемы и современные возможности лечения / И.С. Базин, А.М. Гарин // Русск. мед. журнал. – 2002. – Т. 10, №14. – С. 588–593.
7. Kyriakos Zafirellis. Molecular Markers in Gastric Cancer: Can p53 and Bcl-2 Protein Expressions be Used as Prognostic Factors? / Kyriakos Zafirellis, Andreas Karameris, Nikolaos Milingos and George Androulakis // Anticancer research. – 2005. – Vol. 25. – P. 3629–3636.

#### Сведения об авторах:

Левик Е.Н., заочный аспирант, ассистент каф. онкологии ЗГМУ.

Колесник А.П., к. мед. н., доцент каф. онкологии ЗГМУ.

Кузьмичев А.А., зав. абдоминальным отделением КУ «ЗОКОД» ЗОР.

Христенко Т.А., студентка 5 курса 1 медицинского факультета ЗГМУ.

#### Адрес для переписки:

Левик Елена Николаевна. 69035, г. Запорожье, пр-т Маяковского, 26, каф. онкологии ЗГМУ.

Тел.: (0612) 96 34 96.

Надійшла в редакцію 04.04.2012 р.



Е.Н. Разнатовская

## Интегральные индексы эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключевые слова:** интегральные индексы, эндогенная интоксикация, химиорезистентный туберкулез легких.

**Ключові слова:** інтегральні індекси, ендогенна інтоксикація, хіміорезистентний туберкульоз легень.

**Key words:** integral indices, endogenous intoxication, drug-resistant a pulmonary tuberculosis.

Наведено інтегральні індекси в діагностиці ендогенної інтоксикації у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень.

Представлены интегральные индексы в диагностике эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких.

The paper presents the integrated indices in the diagnosis of endogenous intoxication in patients with drug-resistant a pulmonary tuberculosis.

Только клинические проявления симптомокомплекса эндогенной интоксикации (ЭИ) малоспецифичны [1,4]. Определение интегральных показателей ЭИ позволяет оценить состояние больного, не прибегая к специальным методам исследования [2–5], по данным общего клинического анализа крови.

В результате действия специфических возбудителей и факторов воспаления при воспалительных заболеваниях причиной лейкоцитоза является стимуляция лейкопоэтической функции кроветворных органов [6], обуславливая патологическую картину. Повышение суммарного процентного содержания нейтрофилов сверх нормы у каждого больного указывает на возможность развития в организме воспалительного процесса [2–5]. По изменениям лейкоцитарной формулы с учетом других гематологических показателей можно судить о выраженности воспалительного процесса, степени тяжести ЭИ и эффективности проводимой терапии. Для выражения степени тяжести ЭИ существует ряд индексов, в которых использованы показатели лейкоцитарной формулы.

### Цель работы

Изучение интегральных индексов ЭИ у больных химиорезистентным туберкулезом легких (ХРТЛ) на основании расширенного общего анализа крови.

### Пациенты и методы исследования

Изучение показателей расширенного общего анализа крови проведено у 48 больных ХРТЛ. Средний возраст составил  $(44,2 \pm 1,7)$  лет.

Определяли такие интегральные индексы ЭИ:

1. *Индекс сдвига нейтрофилов (ИС)* – отношение всех несегментированных форм лейкоцитов к сегментированным:

$$ИС = (мц+ю+п)/с = \text{в норме } 0,05-0,08$$

Тяжесть степени заболевания по ИС: тяжелая степень – индекс от 1,0 и выше; средней степени – 0,3–1,0; легкая степень – не более 0,3.

2. *Модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИМ)*, В.К. Островский и соавт. (1983) [5] отражает степень интоксикации:

$$ЛИИМ = мц+пл.кл+ю+п+с/лф+мон+эф+бф = \text{в норме } 1,0-1,6.$$

При легкой степени ЭИ ЛИИМ равен 1,7–2,8, при средней степени – 4,3–8,0, при тяжелой – более 8,1.

3. *Индекс Кребса (ИК)* – отношение всей суммы процентного содержания нейтрофилов к такому же количеству лимфоцитов. Норма = 1,8. ИК объективно отображает степень интоксикации. При легкой ЭИ ИК равен 2,8; при средней тяжести ЭИ – 4,86; при тяжелой степени ЭИ – более 5,76.

4. *Реактивный ответ нейтрофилов (РОН)*, Т.Ш. Хабиров (2000):

$$РОН = (мц+ю+1) \times п \times с / (лф+бф+мон) \times эф = \text{в норме } 10,6.$$

Если палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов менее 1, то  $(п+1)$ ,  $(эф+1)$ .

На компенсирование ЭИ указывают показатели РОН 15–25, на субкомпенсацию – 26–40, на декомпенсацию – более 40.

5. *Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК)* свидетельствует об активности воспалительного процесса и нарушении иммунологической реактивности и не зависит от общего числа лейкоцитов крови:

$$ИСЛК = эф+бф+нф \times (с+п+ю+мц) / мон+лф = \text{в норме } 1,96.$$

6. *Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ)* отражает соотношение неспецифической и специфической защиты:

$$ИСНЛ = п+с/лф = \text{в норме } 2,47.$$

7. *Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ)* позволяет судить о наличии интоксикации, связанной с инфекционным (снижение индекса) или аутоиммунным (повышение индекса) процессом:

$$ИЛСОЭ = л \times СОЭ / 100 = \text{в норме } 1,87.$$

8. *Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ)* позволяет дифференцировать аутоинтоксикацию и инфекционную интоксикацию.

$$ИЛГ = лф \times 10 / мц+ю+п+с+эф+бф = \text{в норме } 4,56.$$

### Результаты и их обсуждение

При изучении показателей периферической крови и лейкоцитарной формулы у больных ХРТЛ (табл. 1) у больных ХРТЛ отмечено повышение показателя СОЭ, который в среднем составил  $22,2 \pm 2,16$  мм/час, эритроциты находились в пределах нормы –  $(4,4 \pm 0,09) \times 10^{12}/л$ , лейкоциты –  $(8,0 \pm 0,3) \times 10^9/л$ .

Таблица 1  
Показатели периферической крови и лейкоцитарной формулы у больных ХРТЛ

Клетки, %	Норма	ХРТЛ, n (48)
Миелоциты	0	0
Метамиелоциты	0	0
Палочкоядерные нейтрофилы	1-6	$7,1 \pm 0,6$
Сегментоядерные нейтрофилы	47-72	$58,1 \pm 1,3$
Эозинофилы	0,5-5	$2,1 \pm 0,3$
Базофилы	0-1	0
Лимфоциты	19-37	$25,0 \pm 1,3$
Моноциты	3-11	$7,6 \pm 0,9$

Таблица 2  
Интегральные показатели лейкограммы крови у больных ХРТЛ

Показатель, усл. ед.	Норма	ХРТЛ, n (48)
ИС	0,05–0,08	$0,96 \pm 0,01$
ЛИИм	1,0–1,6	$2,2 \pm 0,15$
ИК	1,8	$3,6 \pm 0,39$
РОН	10,6	$9,83 \pm 1,27$
ИСЛК	1,96	$2,5 \pm 0,15$
ИСНЛ	2,47	$3,6 \pm 0,39$
ИЛСОЭ	1,87	$1,88 \pm 0,22$
ИЛГ	4,56	$3,99 \pm 0,30$

Анализ интегральных индексов ЭИ показал (табл. 2), что ИС у больных ХРТЛ составил  $(0,96 \pm 0,01)$  усл. ед., что указывало на сдвиг лейкоцитарной формулы влево и на среднюю степень тяжести больных ХРТЛ. При этом показатели ЛИИм ( $2,2 \pm 0,15$  усл. ед.) и ИК ( $3,6 \pm 0,39$  усл. ед.) указывали на умеренно выраженную ЭИ. Отмечено значительное повышение ИСЛК ( $2,5 \pm 0,15$  усл. ед.), что свидетельствовало об активности воспалительного процесса и значительном нарушении иммунологической активности у больных ХРТЛ. Подтверждение значительного нарушения иммунологической активности нашло в значительном повышении ИСНЛ ( $3,6 \pm 0,39$  усл. ед.). Снижение показателя ИЛГ ( $3,99 \pm 0,30$  усл. ед.) указывало на наличие ЭИ у больных ХРТЛ, связанной с инфекционным процессом. Показатели РОН и ИЛСОЭ у больных ХРТЛ находились в пределах нормы, что указывало на компенсирование ЭИ.

Таким образом, на основании полученных данных интегральных показателей расширенного общего анализа крови, у больных ХРТЛ в начале лечения отмечается умеренно выраженная ЭИ, которая связана с инфекционным процессом; активный воспалительный процесс и значительные нарушения иммунологической активности, при этом отмечено компенсирование ЭИ. Поэтому своевременная и ранняя коррекция выявленных нарушений позволит достичь максимального эффекта в комплексном лечении больных ХРТЛ.

### Выводы

Комплексная оценка интегральных показателей ЭИ на основании расширенного общего анализа крови очень информативна в оценке развития, степени тяжести, течения воспалительного процесса и ЭИ. При этом данный метод является самым доступным и простым во всех без исключения лечебных учреждениях, позволит быстро и своевременно определить коррекцию лечения для достижения максимального эффекта.

### Список литературы

1. Воробьева О.А. Взаимосвязь клинических проявлений и уровня эндогенной интоксикации больных туберкулезом легких / О.А. Воробьева. – Туберкулез в России: материалы VIII Российского съезда фтизиатров. – М.: ООО «Идея», 2007. – С. 170.
2. Мустафина Ж.Г. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности у больных офтальмопатологией / Мустафина Ж.Г., Краморенко Ю.С., Кобцева В.Ю. // Клин. лаб. диагностика. – 1999. – №5. – С. 47–49.
3. Гусак В.К. Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожженных по данным лейкоцитограммы и биохимического мониторинга / [Гусак В.К., Фисталь Э.Я., Сперанский И.И. и др.]. // Клин. лаб. диагностика. – 2000. – №10. – С. 36.
4. Инсанов А.Б. Оценка степени эндотоксикоза при туберкулезе легких / Инсанов А.Б. // Материалы 7 съезда фтизиатров России. – 2003.
5. Островский В.К. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях / [Островский В.К., Машенко А.В., Янголенко Д.В., Макаров С.В.]. // Клин. лаб. диагностика. – 2006. – №6. – С. 50–53.
6. Гринпи М.А. Патология легких / Гриппи М.А. – М.: Бином; Х.: МТК-книга, 2005. – 304 с.

### Сведения об авторе:

Разнатовская Е.Н., к. мед. н., доцент каф. фтизиатрии и пульмонологии ЗГМУ.

### Адрес для переписки:

Разнатовская Елена Николаевна. 69035, г. Запорожье, ул. Перспективная, 2, КУ «Областной тубдиспансер» ЗОС, каф. фтизиатрии и пульмонологии ЗГМУ.

Тел. (0612) 236 64 27

E-mail: raznatovskaya.zp@rambler.ua

Надійшла в редакцію 07.12.2011 р.





Ю.Ю. Рябоконт

## Клінічні особливості HCV-асоційованих уражень нервової системи у хворих на хронічний гепатит С

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** хронічний гепатит С, нервова система.

**Ключевые слова:** хронический гепатит С, нервная система.

**Key words:** chronic hepatitis С, nervous system.

Аналіз клінічної симптоматики хронічної HCV-інфекції у 154 хворих показав, що клінічні прояви ураження нервової системи в більшості випадків мають функціональний характер. Ознаки органічних уражень були у 7,1% пацієнтів і поєднувались зі змішаною криоглобулінемією. Розширення знань про позапечінкові прояви, зокрема про особливості неврологічної симптоматики, дозволить покращити своєчасність діагностики HCV-інфекції.

Анализ клинической симптоматики хронической HCV-инфекции у 154 больных показал, что проявления поражения нервной системы в большинстве случаев имеют функциональный характер. Признаки органических поражений выявлены у 7,1% пациентов в сочетании с криоглобулинемией. Расширение знаний о внепеченочных проявлениях, в том числе об особенностях неврологической симптоматики, позволит улучшить диагностику HCV-инфекции.

The analysis of clinical semiology chronic HCV-infection at 154 patients has shown that implications of a lesion of nervous system in most cases have functional character. Signs of organic lesions are taped at 7,1 % of patients in a combination with mixed cryoglobulinemia. Expansion of knowledge of extrahepatic implications, including about features of neurologic semiology, will allow to improve HCV-infection diagnostics.

Актуальність хронічної HCV-інфекції зумовлена не лише широким розповсюдженням і високим ризиком розвитку цирозу печінки, але й системністю уражень. У системних проявах хронічної HCV-інфекції провідним є розвиток імунокомплексного ураження судин з відкладанням криоглобулінів, імуноглобулінів і білків системи комплементу в місцях уражень. У патологічний процес можуть бути залучені судини дерми, інших органів, однак найчастіше уражаються нирки й периферичні нерви [1]. Нині недостатньо вивченою залишається проблема уражень нервової системи у хворих на хронічний гепатит С (ХГС).

Ряд дослідників [2,3] вважають, що ураження нерва є вторинним внаслідок епіневрального васкуліту та порушення мікроциркуляції через інтраваскулярне відкладання криоглобулінів, що призводить до ішемії, дегенерації аксонів і демієлінізації. При цьому існує пряма кореляція між її клінічними проявами та ступенем виразності епіневрального васкуліту [4]. Інші дослідження свідчать, що наявність криоглобулінемії (КГЕ) не є обов'язковим фактором розвитку ураження периферичної нервової системи. Однією з провідних ланок патогенезу розвитку полінейропатії в таких випадках автори [5,6] вважають прямий цитопатичний ефект вірусу та імуноопосередкований механізм ураження, що підтверджується виявленням HCV-RNA у тканині периферійних нервів і наявністю активованих Т-лімфоцитів в епіневральних інфільтратах за відсутністю ознак васкуліту. На сьогодні в розвитку таких органічних HCV-асоційованих уражень нервової системи, як підгостра дистальна симетрична сенсомоторна нейропатія та менш поширена мононейропатія, розглядається не тільки імунокомплексні, але й імуноклітинні механізми [6–8].

### Мета роботи

Визначити частоту розвитку та особливості клінічної симптоматики HCV-асоційованих уражень нервової системи у хворих на хронічний гепатит С.

### Пацієнти і методи дослідження

Під спостереженням в гепатологічному центрі ЗОІКЛ перебували 154 хворих на ХГС віком від 23 до 64 років, середній вік склав  $41,2 \pm 1,4$  років. Чоловіків було 87, жінок – 67. Всі хворі залучені в дослідження за випадковою ознакою і підписували інформовану згоду. Проведено традиційні клініко-біохімічні, серологічні та вірусологічні дослідження, а також визначено вміст криоглобулінів у сироватці крові спектрофотометричним методом.

Отримані дані опрацьовано методом варіаційної статистики.

### Результати та їх обговорення

За результатами досліджень у хворих на ХГС виявлено широкий спектр позапечінкових проявів: найчастіше виявляли лабораторні ознаки змішаної КГЕ (116 – 75,3%) з рівнем криокриту в середньому  $3,1 \pm 0,2$  опт. од., клінічні ознаки КГЕ-синдрому з формуванням повної тріади Мельтцера виявлялись у 36 (23,4%) хворих, наявністю HCV-асоційованого геморагічного КГЕ-ваускуліту у 19 (12,3%), ураженням нирок у 10 (6,5%) пацієнтів. Крім позапечінкових проявів, що чітко асоціюються з КГЕ, у хворих на ХГС відзначено також наявність тіреопатії (51 – 33,1%), сухого синдрому (12 – 7,8%), цукрового діабету 2-го типу (13 – 8,4%), червоного плоского лишая (8 – 5,2%), синдрому Рейно (5 – 3,2%), В-клітинної неходжкінської лімфоми (2 – 1,3%), вузлової еритеми (2 – 1,3%).

Аналіз проявів ураження нервової системи показав, що найчастіше (96 – 62,3%) у хворих на ХГС виявлялись функціональні порушення у вигляді антено-вегетативних проявів: хворі скаржились на слабкість, швидку втомлюваність, пітливість, відзначали емоціональну лабільність, у деяких випадках були схильні до депресивних станів. Проте клінічні прояви органічних уражень нервової системи траплялись тільки у 11 (7,1%) пацієнтів та проявлялись ознаками дистальної симетричної нейропатії з сенсорними або сенсомоторними порушеннями. Ці прояви у всіх випадках поєднувались зі змішаною кріоглобулінемією. У переважній більшості хворих на ХГС клінічні ознаки периферичної полінейропатії відступали на другий план, порівняно з печінковою симптоматикою або іншими позапечінковими проявами. Однак в одному випадку прояви полінейропатії виявились провідними в клінічній маніфестації хронічної HCV-інфекції та зумовили труднощі діагностики ХГС.

Наводимо клінічне спостереження. Хворий М., 54 років, діагноз ХГС вперше встановлено в травні 2011 року. При первинному зверненні до гепатологічного центру ЗОІКЛ в листопаді 2011 року стало відомо, що раніше маніфестної форми вірусного гепатиту не було, в 2008–2009 роках мали місце часті стоматологічні втручання. За даними анамнезу, з жовтня 2010 року з'явилися та поступово наростали загальна слабкість, артралгії, відчуття оніміння пальців рук, тягнучий біль, пастозність рук особливо вночі, обмеження руху в суглобах рук. Вперше хвора звернулася до невролога в квітні 2011 року, виникла підозра на розвиток полінейропатії. В стаціонарі здійснено електроміографічне дослідження, за результатами якого відзначено вогнищеве ураження серединного нерву з обох сторін, блок проведення з права і зліва I ступеня та діагностовано «Вторинну нейропатію серединних нервів з обох сторін, помірний больовий і нейротрофічний синдром». У біохімічних показниках відзначено підвищення активності АлАТ у сироватці крові в 1,2 рази, однак на той час обстеження на маркери вірусних гепатитів не проводили. Пацієнтка отримала курс лікування  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою, вітаміни групи В, магнітотерапію на кисті рук та передпліччя, ультразвук з гідрокортизоном. Після курсу лікування пацієнтка виписана без суттєвої динаміки. Через 3 місяці хвора стала відзначати оніміння та поколювання в області носа й губ, періодично осиплість голосу, ще через місяць приєдналось оніміння в оромандибулярній зоні. При огляді неврологом виявлено зміну голосу, гіпомімічність лица, очні щілини S<D, опущення лівого кута рота, девіацію язика вправо, гіпоанальгезію шкіри носа та шкіри в зонах Зельцера, виражену «мармуровість» пальців рук, діагностовано вторинну полінейропатію з ураженням черепних нервів. Надалі приєдналась виражена сухість шкірних покривів і слизових оболонок очей і рота, відчуття «грудки» в горлі, утруднення при ковтанні твердої їжі, підсилена загальна слабкість.

Часто, інколи декілька разів на день, стали виникати епізоди похолодіння пальців рук з відчуттям оніміння й парестезій, що супроводжувались зміною їх кольору до побіління, що змінювалось на виражену синюшність. При обстеженні виявлено високий рівень антинуклеарних антитіл – 4,9 од. (референтний інтервал <0,9 од.), збереження підвищеної активності АлАТ в сироватці крові в 1,5 рази, в маркерах вірусних гепатитів виявились позитивними «anti-HCV+», у зв'язку з чим хвора направлена в гепатологічний центр.

При обстеженні в листопаді-грудні 2011 року в гепатологічному центрі ЗОІКЛ підтверджено виявлення антитіл до вірусу гепатиту С, в крові виявлено «HCV-RNA 1b генотип», у результатах лабораторних досліджень: активність АлАТ в сироватці крові 3,8 ммоль/год.л, лейкопенія  $3,2 \times 10^9$ /л, вміст змішаних кріоглобулінів у сироватці крові склав 3,54 од. (референтний інтервал <2,0 од.), показники вмісту гормонів щитоподібної залози та органоспецифічних аутоантитіл були в межах референтних інтервалів. За результатами УЗД органів гепатобіліарної системи відзначено підвищення ехогенності паренхіми печінки та помірне збільшення розмірів селезінки. Проведено неінвазивне визначення стадії захворювання Fibrotest, за результатами якого виявлено фіброз печінки F2 (портальний фіброз з рідкими септами) та високу запальну активність гепатиту А3. Крім того, пацієнтка додатково направлена на спектральну доплерографію артерій верхніх кінцівок. За результатами цього дослідження кровотік по артеріям верхніх кінцівок магістральний, по локтевим артеріям у дистальних відділах з обох сторін виражено знижений. Кровотік по пальцевим артеріям практично не лоцірований (лоціровані лише 2–3 сегменти пальцевих артерій з 28 в нормі).

Отже, у хворої діагностовано хронічний гепатит С (HCV-RNA 1b генотип), високої активності А3, стадія фіброзу печінки F2, що супроводжувався такими системними проявами, як змішана кріоглобулінемія, вторинна полінейропатія, синдром Рейно, сухий синдром. У зв'язку з превалюванням позапечінкових проявів ХГС, пов'язаних з ураженням нервової системи, для подальшого лікування хвора переведена в неврологічне відділення.

За даними сучасної наукової літератури, ураження периферичної нервової системи виявляється у 4–17% хворих на хронічну HCV-інфекцію, збільшуючись до 20–56% у хворих з наявністю змішаної КГЕ [1,4,9–11]. Проявляється HCV-асоційована периферична полінейропатія сенсорними або сенсо-моторними порушеннями: парестезіями, онімінням, моторними порушеннями кінцівок та/або множинними невритами [4]. Проте при застосуванні електроміографічного методу ознаки полінейропатії визначають значно частіше й, за даними різних авторів, реєструють у 69–73% пацієнтів зі змішаною HCV-асоційованою КГЕ [9,12].

Останніми роками у спеціалізованій літературі також з'являються повідомлення про зв'язок між розвитком депресивних розладів і безпосередньою реплікацією HCV у нервових клітинах глії головного мозку, що призводить до порушення їх функціонального стану та навіть до загибелі [13–15].

#### Висновки

1. Клінічні прояви ураження нервової системи у хворих на хронічну HCV-інфекцію в більшості випадків

(62,3%) мають функціональний характер. Клінічні ознаки органічних уражень нервової системи у поєднанні зі змішаною криоглобулінемією виявлено у 7,1% пацієнтів.

2. Розширення знань про позапечінкові прояви ХГС, зокрема особливості неврологічної симптоматики, дозволить покращити своєчасність діагностики HCV-інфекції.

#### Список літератури

1. Федорченко С.В. Хроническая HCV-инфекция: Монография. – К.: ВСИ “Медицина”, 2010. – 272 с.
2. Ladove O. Hepatitis C virus infection with peripheral neuropathy is not always associated with thrombocytopenia / O. Ladove, P. Cocaub, T. Maisonobe // Ann. Rheum. Dis. – 2001. – Vol. 60 (3). – P. 290–292.
3. Nemni R. Peripheral neuropathy in hepatitis C virus infection with and without cryoglobulinemia / R. Nemni, L. Sanvito, A. Quatrini // J. Neurol. Neurosurg Psychiatry. – 2003. – Vol. 74. – P. 1267–1271.
4. Мальков П.Г. Внепеченочные осложнения хронического вирусного гепатита С (обзор) / П.Г. Мальков, Н.В. Данилова, Л.В. Москвина // Успехи современного естествознания. – 2008. – №11. – С. 4–12.
5. Bonetti B. Hepatitis C virus infection of peripheral nerves in type II cryoglobulinemia / B. Bonetti, M. Scardoni, S. Monaco // Virchows. Arch. – 1999. – Vol. 434. – P. 533–535.
6. Rafai M.A. The presentation of viral hepatitis C infection without cryoglobulinemia with a peripheral neuropathy. Five case reports / M.A. Rafai, I. Gam, H. Fadel // Rev. Neurol. – 2006. – Vol. 162 (5). – P. 623–627.
7. Acharya J.N. Neurologic complications of hepatitis C / J.N. Acharya, V.H. Pacheco // Neurologyst. – 2008. – Vol. 14 (3). – P. 151–156.
8. McKee D.H. Neurologic complications associated with hepatitis C virus infection / D.H. McKee, A.C. Young, A. Alonso-Domingues // Neurology. – 2000. – Vol. 55 (3). – P. 459.
9. Migliaresi S. Peripheral nervous system involvement in HCV-related mixed cryoglobulinemia / S. Migliaresi, G. Diorio, A. Ammendola // Reumatol. – 2001. – Vol. 53. – P. 26–32.
10. Ярош О.О. Ускладнення з боку нервової системи при хронічному гепатиті С – сучасний стан проблеми / О.О. Ярош, П.В. Кругліков // Інфекційні хвороби. – 2011. – №3. – С. 85–88.
11. Khella S.L. Hepatitis C: a review of its neurologic complications / S.L. Khella, N. Souayah // Neurologist. – 2002. – Vol. 8 (2). – P. 101–106.
12. Warren N. Hepatitis C virus (HCV) infection and cryoglobulinemia: analysis of whole blood and plasma HCV-RNA concentrations and correlation with liver histology / N. Warren, J. Schmidt, T. Jack // Hepatology. – 2000. – Vol. 31. – P. 737–744.
13. Lengyel G. Hepatitis C viral infection and depression / G. Lengyel, Z. Aszalos, Z. Tulassay // Orv. Hetil. – 2007. – Vol. 148 (1). – P. 11–15.
14. Wilkinson J. Hepatitis C virus neuroinvasion: identification of infected cells / J. Wilkinson, M. Radkowski, T. Laskus // J. Virol. – 2009. – Vol. 83 (3). – P. 1312–1319.
15. Bednarska A. Central nervous system as a possible site of HCV replication / A. Bednarska, A. Horban, M. Radkowski // Przegl. Epidemiol. – 2007. – Vol. 61 (4). – P. 739–745.

#### Відомості про автора:

Рябоконт Ю.Ю., к. мед. н., асистент каф. госпітальної педіатрії та дитячих інфекційних хвороб ЗДМУ.

#### Адреса для листування:

Рябоконт Юрій Юрійович. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, курс дитячих інфекційних хвороб ЗДМУ.  
Тел.: (061) 214 95 20.

Надійшла в редакцію 07.12.2011 р.



В.В. Сиволап<sup>1</sup>, Н.В. Туманська<sup>1</sup>, Л.В. Франскявічене<sup>2</sup>

## Ремоделювання лівих відділів серця у хворих на первинну діастолічну хронічну серцеву недостатність ішемічного генезу залежно від профілю наповнення лівого шлуночка

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

<sup>2</sup>КУ «Центральна районна лікарня Орджонікідзевського району», м. Запоріжжя

**Ключові слова:** первинна діастолічна хронічна серцева недостатність ішемічного генезу, профіль діастолічного наповнення лівого шлуночка, структурні та функціональні зміни лівих порожнин серця.

**Ключевые слова:** первичная диастолическая хроническая сердечная недостаточность ишемического генеза, профиль диастолического наполнения левого желудочка, структурные и функциональные изменения левых полостей сердца.

**Key words:** primary diastole chronic heart failure of ischemic genesis, type of the diastole filling of the left ventricle, structural and functional changes of the left cavities of heart.

Показано, що у хворих на первинну діастолічну хронічну серцеву недостатність зміни профілю діастолічного наповнення лівого шлуночка асоціюються з вірогідним збільшенням порожнини лівого передсердя в систолу та діастолу, кінцевого діастолічного і систолічного індексів лівого шлуночка, індексу маси його міокарда, внутрішньоміокардіального напруження лівого шлуночка, а також зниженням фракції викиду й кінцевого систолічного тиску лівого шлуночка, загального периферичного судинного опору в порівнянні з аналогічними показниками в групі контролю.

Показано, что у больных первичной диастолической хронической сердечной недостаточностью изменения профиля диастолического наполнения левого желудочка ассоциируются с достоверным увеличением полости левого предсердия в систолу и диастолу, конечного диастолического и систолического индексов левого желудочка, индекса массы его миокарда, внутримыокардиального напряжения левого желудочка, а также снижением фракции выброса и конечного систолического давления левого желудочка, общего периферического сосудистого сопротивления в сравнении с аналогичными показателями группы контроля.

In the article is shown that for the patients with primary diastole chronic heart failure the changes of the type of the diastole filling of the left ventricle are associated with the reliable increasing of cavity of the left auricle in a systole and diastole, eventual diastole and systole indexes of the left ventricle, index of mass of myocardium of the left ventricle, intramyocardial tension of the left ventricle, by the recession of fraction emission and eventual systole pressure of the left ventricle, general peripheral vascular resistance by comparison to the analogical indexes of control group.

Хронічна серцева недостатність (ХСН) – один із патологічних станів серцево-судинної системи з вкрай несприятливим прогнозом. За темпами зростання захворюваності ХСН посідає першу сходинку серед усієї серцево-судинної патології [1]. Нині на ХСН страждають у середньому 1–3% населення Землі. За даними національних реєстрів європейських країн та епідеміологічних досліджень, показник поширеності ХСН серед дорослого населення становить 2–5% і зростає пропорційно до віку, у осіб віком понад 70 років він становить від 10 до 20% [4]. За даними національних реєстрів країн Європи і Росії, поширеність цього синдрому становить 1–9%, частота його зростає з віком і після 65 років досягає 10–28% [5,6].

Середня тривалість життя хворих на ХСН від моменту встановлення діагнозу становить від 1,7 до 7 років і при тривалому спостереженні свідчить про підвищення ризику смерті, що на 5-й рік у 4 рази перевищує початкові значення [3]. Незважаючи на певні успіхи в лікуванні зазначеної патології, найбільш перспективним є пошук ранніх діагностичних критеріїв ХСН і раннє виявлення хворих з високим ризиком виникнення дисфункції серця з метою первинної профілактики ХСН [2,4].

### Мета роботи

З'ясування особливостей ремоделювання лівих відділів серця у хворих на первинну діастолічну хронічну

серцеву недостатність ішемічного генезу залежно від профілю наповнення лівого шлуночка.

### Пацієнти і методи дослідження

Обстежені 111 хворих на хронічну серцеву недостатність ішемічного генезу I–IV ФК (класифікація NYHA) [ESC Guidelines, 2008] віком  $63,38 \pm 1,08$  років, серед них 72,97% чоловіків і 27,03% жінок. Залежно від профілю діастолічного наповнення ЛШ обстежені пацієнти розподілені на 3 групи: 45 хворих (40,54%) мали профіль діастолічного наповнення лівого шлуночка за типом «порушення релаксації» (ПР), 63 пацієнта (56,76%) – «псевдонормальний» профіль (ПН), 3 особи (2,7%) – «рестриктивний» профіль (РН). Контрольну групу склали 28 практично здорових осіб відповідного віку та статі.

Структурно-геометричні й функціональні показники серця вивчали в М-модальному, секторальному, доплерівському постійно-хвильовому і імпульсно-хвильовому режимах за загальноприйнятою методикою [Lang R.M., Bierig M., Devereux R.B. et al., 2005] на апаратах Philips En Visor (США), Aloka 630 (Японія) датчиком 2–4 мГц.

На основі отриманих даних розраховували наступні показники за загальноприйнятими формулами: середнього тиску в легеневій артерії (СТЛА, мм рт. ст.), тиску заклинювання легеневих капілярів (ТЗЛК, мм рт. ст.), ударного об'єму (УО, мл), ударного індексу (УІ, мл/м<sup>2</sup>), хвилинного об'єму крові (ХОК, мл/хв), загального

периферичного судинного опору (ЗПСО, дін х см<sup>-5</sup>), внутрішньоміокардіального напруження (ВМН, дін/см<sup>2</sup>), маси й індексу маси міокарда лівого шлуночка (ІММЛШ, г/м<sup>2</sup>), кінцево-сistolічного індексу скорочення міокарда (ІСМ, мм рт. ст./мл), індексу жорсткості міокарда ЛШ (ІЖМ, мм рт. ст./мл), кінцевого діастолічного і систолічного тиску (КДТ, КСТ, мм. рт. ст.) у порожнині лівого шлуночка, фракції спорощнення ЛП (ФСЛП, %).

Отримані кількісні дані оброблено методами варіаційної статистики на персональному комп'ютері з використанням ліцензійного пакету програм «Statistica» (version 6.1, StatSoftInc, США, № ліцензії АХХR712D833214SAN5). При аналізі вибірок, що не відповідали законам нормального розподілу, використовували непараметричні методи: для пов'язаних сукупностей – парний критерій Вілкоксона, для незалежних – U-критерій Манна-Уїтні. Достовірними відмінності вважали за умови  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

*Структурно-геометричні й функціональні показники лівих порожнин серця у хворих на первинну діастолічну ХСН, які мали профіль діастолічного наповнення ЛШ за типом «порушення релаксації».* Аналіз структурно-геометричних показників ЛШ у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР виявив збільшення КДР ЛШ на 27,63 % ( $p < 0,05$ ) і КСР ЛШ – на 56,10% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР КДО ЛШ і його індекс були більші на 46,72% ( $p < 0,05$ ) і на 40,40% ( $p < 0,05$ ); а КСО ЛШ і його індекс більші на 166,60% ( $p < 0,05$ ) і на 154,31% ( $p < 0,05$ ) за показники у пацієнтів групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР діастолічний і систолічний розміри ЛП були більше на 30,84% ( $p < 0,05$ ) і на 44,57% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками у пацієнтів групи контролю. Товщина ЗСЛШ в систолу і діастолу, МШП в систолу і діастолу у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР збільшилась на 48,85% ( $p < 0,05$ ) і 64,16% ( $p < 0,05$ ), на 49,31% ( $p < 0,05$ ) і 72,47% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками в групі контролю. ММЛШ, ІММЛШ і ВМН у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР збільшились на 141,37% ( $p < 0,05$ ), 131,36% ( $p < 0,05$ ) і 152,15% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками групи контролю. При вивченні показників систолічної функції ЛШ у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР визначається зниження ФВ ЛШ на 29,93% ( $p < 0,05$ ) і показника передньо-заднього скорочення ЛШ на 38,68% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками у пацієнтів групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР КСТ у порожнині ЛШ достовірно більше на 18,1% ( $p < 0,05$ ), а кінцево-сistolічний ІСМ ЛШ менше на 54,01% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками в групі контролю. Різниця показників УО, УІ та ХОК була недостовірною. ЗПСО у хворих на ХСН

з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР більше на 30,61% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показником у групі контролю. При аналізі доплерографічних показників трансмітрального потоку у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПР виявлено зниження показників тільки раннього наповнення ЛШ: максимальної швидкості на 41,34% ( $p < 0,05$ ); середньої – на 44,92% ( $p < 0,05$ ) і збільшення часу сповільнення кровотоку на 44,01% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками в групі контролю.

*Структурно-геометричні та функціональні показники лівого серця.* КДО, КСО ЛШ і їх індекси у хворих на первинну діастолічну ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за «псевдонормальним» типом (ПН) збільшились на 18,38% ( $p < 0,05$ ), 70,84% ( $p < 0,05$ ), 11,96% ( $p < 0,05$ ) і на 61,82% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками у пацієнтів групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН виявлено збільшення КДР ЛШ на 13,5% ( $p < 0,05$ ), КСР ЛШ на 28,8% ( $p < 0,05$ ), систолічного розміру ЛП на 27,63% ( $p < 0,05$ ), діастолічного розміру ЛП на 17,62% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками у пацієнтів групи контролю. В групі хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН збільшились показники товщини ЗСЛШ в систолу на 44,54% ( $p < 0,05$ ), ЗСЛШ в діастолу на 52,52% ( $p < 0,05$ ), МШП в систолу на 44,5% ( $p < 0,05$ ), МШП в діастолу на 61,06% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН ММЛШ, ІММЛШ і ВМН були більші на 94,43% ( $p < 0,05$ ), 85,56% ( $p < 0,05$ ) і 104,16% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками групи контролю.

При вивченні показників систолічної функції ЛШ у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН визначається зниження ФВ ЛШ на 15,02% ( $p < 0,05$ ) і показника передньо-заднього скорочення ЛШ на 21,19% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічними показниками групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН КСТ у порожнині ЛШ більше на 17,27% ( $p < 0,05$ ), а кінцево-сistolічний ІСМ ЛШ менше на 29,64% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками в групі контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН УІ ЛШ знижувався на 9,19% ( $p < 0,05$ ), а різниця показників УО, ХОК недостовірною. ЗПСО у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН більше на 33,49% ( $p < 0,05$ ) аналогічного показника в групі контролю. При аналізі показників трансмітрального потоку у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом ПН виявлено зниження максимальної швидкості на 21,02% ( $p < 0,05$ ), середньої на 22,70% ( $p < 0,05$ ) у фазу раннього наповнення ЛШ, зменшення середньої швидкості під час систоли ЛП на 11,39% ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою контролю. За показниками часу сповільнення трансмітрального потоку, часу ізвольюмічного розслаблення ЛШ, ІЖМ групи не розрізнялись. У хворих на ХСН з профілем ді-

столічного наповнення ЛШ за типом ПН ФСЛП менше на 17,97% ( $p < 0,05$ ), а КСТ в порожнині ЛШ більше на 21,45% ( $p < 0,05$ ) показників у групі контролю.

Ремоделювання лівих порожнин серця у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за «рестриктивним» типом (РН) полягало в збільшенні КДО ЛШ – на 71,62% ( $p < 0,05$ ), КСО ЛШ – на 212,07% ( $p < 0,05$ ), ІКДО ЛШ – на 65,61% ( $p < 0,05$ ) і ІКСО ЛШ – на 197,47% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками групи контролю. Також у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН виявлено збільшення КДР ЛШ на 37,29% ( $p < 0,05$ ), КСР ЛШ – на 67,75% ( $p < 0,05$ ), систолічного розміру ЛП на 21,07% ( $p < 0,05$ ), а також тенденцію до збільшення діастолічного розміру ЛП порівняно з аналогічними показниками у пацієнтів групи контролю. Збільшуються показники товщини ЗСЛШ в систолу на 50,96% ( $p < 0,05$ ), в діастолу – на 49,49% ( $p < 0,05$ ); збільшується МШП в систолу на 31,67% ( $p < 0,05$ ), в діастолу – на 46,94% ( $p < 0,05$ ) у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН порівняно з групою контролю. ММЛШ, ІММЛШ і ВМН у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН на 125,43% ( $p < 0,05$ ), 116,71% ( $p < 0,05$ ) і на 115,61% ( $p < 0,05$ ) більші, ніж у осіб групи контролю. У хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН визначається зниження ФВ ЛШ на 31,90% ( $p < 0,05$ ) і показника передньо-заднього скорочення ЛШ на 33,88% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками у пацієнтів групи контролю. Кінцево-систолічний ІСМ ЛШ у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН зменшився на 66,27% ( $p < 0,05$ ). За показниками КСТ у порожнині ЛШ, УО, УІ ЛШ, ХОК і ЗПСО групи не розрізнялись. Аналіз доплерографічних показників трансмітрального потоку в групі хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН виявив зниження максимальної і

середньої швидкостей та часу сповільнення кровотоку раннього наповнення ЛШ на 17,57% ( $p < 0,05$ ), 19,86% ( $p < 0,05$ ) і на 39,58% ( $p < 0,05$ ), під час систоли ЛП зниження максимальної і середньої швидкостей – на 45,92% ( $p < 0,05$ ) і 45,94% ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками в групі контролю. Час ізвольомічного розслаблення ЛШ у хворих на ХСН з профілем діастолічного наповнення ЛШ за типом РН менше на 36,21% ( $p < 0,05$ ) порівняно з аналогічним показником пацієнтів групи контролю. Різниця показників часу сповільнення в період передсердної систоли, ФСЛП була недостовірною.

#### Висновки

У хворих на первинну діастолічну ХСН (ФВ ЛШ  $> 45\%$ , NT-pro-BNP  $> 4000$  пг/мл) зміни профілю діастолічного наповнення ЛШ за типом «порушення релаксації» асоціюються з вірогідним збільшенням порожнини лівого передсердя в систолу та діастолу, КДІ ЛШ на 40,4%, КСІ ЛШ на 154,3%, ІММЛШ на 131,4%, ВМН ЛШ на 152,2%, зниженням ФВ ЛШ на 29,93%, КСТ ЛШ на 18,1%, ЗПСО на 30,6% порівняно з аналогічними показниками в групі контролю.

У хворих на первинну діастолічну ХСН зміни профілю діастолічного наповнення ЛШ за «псевдонормальним» типом асоціюються з вірогідним збільшенням порожнини лівого передсердя в систолу на 27,63% та діастолу 17,62%, КДІ ЛШ на 70,84%, КСІ ЛШ на 61,82%, ІММЛШ на 85,56%, ВМН ЛШ на 104,2%, зниженням ФВ ЛШ на 15,02%, КСТ ЛШ на 17,27%, ЗПСО на 33,49% порівняно з аналогічними показниками в групі контролю.

Ремоделювання лівих порожнин серця у хворих на первинну діастолічну ХСН з профілем наповнення ЛШ за «рестриктивним» типом полягає в збільшенні КДІ ЛШ на 65,61%, КСІ ЛШ на 197,47%, систолічного розміру ЛП на 21,07%, ІММЛШ на 116,71%, ВМН на 115,61%, а також зниженні ФВ ЛШ на 31,90% в порівнянні з аналогічними показниками в групі контролю.

#### Список літератури

1. Діагностика та лікування серцевої недостатності: (за Рекомендаціями з діагностики та лікування гострої та хронічної серцевої недостатності Європейського товариства кардіологів, 2008) // Мистецтво лікування. – 2008. – №9. – С. 17–26.
2. Жарінов О.Й. Первинна профілактика серцевої недостатності / О.Й. Жарінов // Серцева недостатність. – 2009. – №1. – С. 41–46.
3. Коваленко В.Н. Изучение выживаемости и функции риска смерти у пациентов с хронической сердечной недостаточностью различного генеза: результаты 5-летнего проспективного исследования / Коваленко В.Н., Онищенко Е.В., Рябенко Д.В. // Укр. мед. часопис. – 2008. – №4 (66). – С. 32–36.
4. Рекомендації Української асоціації кардіологів з діагностики, лікування та профілактики хронічної серцевої недостатності у дорослих / За ред. Л.Г. Воронков. – К.: Четверта хвиля, 2006. – 44 с.
5. Фомин И.В. Распространенность хронической сердечной недостаточности в Европейской части Российской Федерации – данные ЭПОХА-ХСН / Фомин И.В., Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. и др. // Сердечная недостаточность. – 2006. – Т. 7, №3. – С. 112–115.
6. Dargie H.J. Managing heart failure in primary care / Dargie H.J., McMurray J., Poole-Wilson P.A. – London, Blackwell Health Care Communication, 1997. – P. 23–34

#### Відомості об авторах:

Сиволап В.В., д. мед. н., професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб з доглядом за хворими ЗДМУ.  
Туманська Н.В., к. мед. н., доцент каф. урології, променевої діагностики і терапії ЗДМУ.  
Франскявичене Л.В., зав. відділенням кардіології КУ «Центральна районна лікарня Орджонікідзевського району», лікар-кардіолог вищої категорії.

#### Адреса для листування:

Сиволап Віталій Вікторович. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. пропедевтики внутрішніх хвороб з доглядом за хворими ЗДМУ. Тел.: (061) 233 60 48.

Надійшла в редакцію 27.03.2012 р.



Н.В. Авраменко, Д.Є. Барковський, О.А. Нікіфоров, О.В. Кабаченко, І.Б. Грідіна

## Оптимізація навчального процесу щодо викладання аспектів репродуктивної медицини на медичному факультеті медичного університету

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** оптимізація, навчальний процес, репродуктивна медицина.

**Ключевые слова:** оптимизация, учебный процесс, репродуктивная медицина.

**Key words:** optimization, the learning process, reproductive medicine.

Висвітлено проблеми викладання теми «Репродуктивна медицина» на медичному факультеті щодо впровадження положень Болонського процесу. Наголошено на необхідності проведення педагогічного процесу на базі спеціалізованих медичних закладів, що в повному обсязі надають медичну допомогу при лікуванні безпліддя, гінекологічним хворим з нейроендокринними синдромами, а також при лікуванні андрологічних хворих.

Освещены проблемы преподавания темы «Репродуктивная медицина» на медицинском факультете в рамках внедрения положений Болонского процесса. Отмечено, что педагогический процесс по данной теме должен проводиться на базе специализированных медицинских учреждений, которые в полном объеме оказывают медицинскую помощь при лечении бесплодия, гинекологическим больным с нейроэндокринными синдромами, а также при лечении андрологических больных.

The article is devoted to the problem of teaching theme «Reproductive medicine» on a medical faculty in the framework of Bologna process. The authors indicate the need for the teaching of the aspects of reproductive medicine in the specialized medical agencies, which ensure the complete complex of services during the treatment of sterility, with the neuroendocrine syndromes in gynaecological patients, and also in andrological patients.

Проблема репродуктивного здоров'я жінки та безплідного шлюбу тісно пов'язана з процесами відтворення населення України, що має соціальне значення. Наукові та практичні аспекти цієї проблеми стрімко розвиваються з кінця ХХ сторіччя, що призвело до відокремлення окремої галузі медичної науки – репродуктивної медицини.

Початок ХХІ сторіччя характеризується впровадженням репродуктивних технологій у практичну медицину, що знайшло відображення у створенні більше 10 центрів штучного запліднення в Україні та народженні декілька сотень малюків завдяки штучному втручання. Закордонні досягнення вагоміші, а кількість новонароджених визначають десятками тисяч. Безумовно, сучасні питання репродуктивної медицини обговорюються на численних закордонних конгресах, на вітчизняних науково-практичних конференціях і семінарах в межах курсу підвищення кваліфікації акушерів-гінекологів тощо.

### Мета роботи

Окреслити шляхи оптимізації навчального процесу щодо викладання аспектів репродуктивної медицини на медичному факультеті медичного університету.

Викладання аспектів репродуктивної медицини досі залишається поза зором академічної медичної науки як за кордоном, так і в Україні. В нашій країні в медичних університетах тільки з'являються спеціалізовані кафедри та/або курси з питань репродуктивної медицини, створення яких є потребою часу у зв'язку з підвищенням вимог до підготовки майбутніх лікарів. Саме тому у 2004 р. керівництвом університету реорганізовано кафедру акушерства і гінекології Запорізького державного медич-

ного університету у кафедру акушерства, гінекології та репродуктивної медицини, а в 2011 р. створено кафедру акушерства, гінекології та репродуктивної медицини факультету післядипломної освіти (завідувач кафедри – доктор наук, доцент, Заслужений лікар України Наталія Вікторівна Авраменко), а кафедрі медичного факультету повернуто її традиційну назву.

Вимоги сьогодення – це викладання аспектів репродуктивної медицини у невід'ємному зв'язку з класичними канонами акушерства і гінекології, які необхідно ретельно вивчати, з обов'язковим опануванням практичних навичок під час навчання на IV–V курсах медичного факультету та при подальшому поглибленні теоретичних знань й удосконаленні практичних навичок на VI курсі.

Невід'ємною частиною репродуктивної медицини є гінекологія дітей і підлітків, теоретичні та практичні основи якої викладають на V–VI курсах для студентів педіатричних груп медичного факультету, а також для студентів VI курсу медичного факультету.

До останнього часу викладання аспектів безплідного шлюбу стосувалось його етіопатогенетичних механізмів, методів діагностики та лікування в умовах спеціалізованого прийому жіночої консультації, гінекологічного відділення клінічного пологового будинку. Вимогою сучасності є створення спеціалізованих лікувально-профілактичних закладів, що мають повний обсяг діагностично-лікувального обладнання для лікування безпліддя, у тому числі, для проведення допоміжних репродуктивних технологій (IVF, ICSI).

У Запорізькому регіоні у 1991 р. створено Запорізький обласний медичний центр репродукції людини (КУ «ОМЦРЛ» ЗОР), який з вересня 2011 р. є клінічною

базою кафедри акушерства, гінекології та репродуктивної медицини факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету.

У складі КУ «ОМЦРЛ» ЗОР функціонують центр планування сім'ї та репродуктивного здоров'я, відділення репродуктивного здоров'я з гінекологічними та андрологічними ліжками (у тому числі стаціонар денного перебування), відділення анестезіології та інтенсивної терапії, відділення лабораторії штучного запліднення, медико-генетична консультація з обласною пренатальною комісією, медико-генетичний кабінет, клініко-діагностична лабораторія (клінічна, біохімічна, імуноферментна, полімеразної ланцюгової реакції). Лікувально-діагностичну допомогу в КУ «ОМЦРЛ» ЗОР здійснюють лікарі 18 спеціальностей, зокрема акушерства і гінекології, андрології, урології, генетики, терапії, сексопатології, педіатрії, ендокринології, дерматовенерології, анестезіології, рентгенології, ультразвукової діагностики тощо. Психологічну допомогу пацієнтам надають психотерапевти та психологи.

Отже, викладання аспектів репродуктивної медицини для студентів V–VI курсу медичного факультету ґрунтується на використанні та висвітленні названих лікарських маніпуляцій і методик, виконання яких повною мірою має матеріально-технічне забезпечення на базі КУ «ОМЦРЛ» ЗОР та відповідає вимогам як сучасної медицини, так і вимогам сучасної підготовки лікаря у вищому медичному навчальному закладі.

Студенти IV курсу медичного факультету проходять навчання на кафедрі за дисциплінами: «Медична генетика» (45 годин/1,5 кредиту) та «Урологія» (в частині «Репродуктивна андрологія» 35 годин/1 кредит). З дисципліни «Медична генетика» викладання здійснюється державною та англійською мовами. Студенти мають можливість опановувати практичні навички в обласному медико-генетичному центрі, який створено в 2011 р. на базі КУ «ОМЦРЛ» ЗОР. Для опанування навичок з андрології створено умови для амбулаторного та стаціонарного лікування цього контингенту хворих, що формує

у студентів чітке уявлення про систему диспансеризації та роль лікаря-андролога в проблемі комплексного лікування безплідного шлюбу.

Для студентів V курсу медичного факультету медичного факультету з модулю 3 «Захворювання жіночої репродуктивної системи. Планування сім'ї» відокремлена низка тем, що стосуються репродуктивної медицини, зокрема питання дитячої гінекології. Загальна кількість годин, виділених на вивчення аспектів репродуктивної медицини на V курсі, складає 15 (0,5 кредиту), навчання проводиться також для англійськомовних студентів.

Протягом навчального року студенти VI курсу медичного факультету в межах вивчення модулю 4 «Акушерство і гінекологія», у тому числі студенти педіатричних груп та англійськомовні студенти, отримують теоретичні знання та опановують практичні навички та вміння з тематики «Безплідний шлюб», «Планування сім'ї та контрацепція», «Нейроендокринні синдроми» (21 година). Разом з цим, необхідно зазначити взаємозв'язок між викладанням матеріалу для студентів VI курсу у частині «Жіноча консультація» з матеріалом частини «Репродуктивна медицина». Саме завдяки цьому можна вповні пояснити етапність надання акушерсько-гінекологічної допомоги на Україні та довести структуру і можливості надання спеціалізованої медичної допомоги щодо безплідного шлюбу чи планування сім'ї, а також для інших видів гінекологічної допомоги.

#### Висновки

Сучасний розвиток медицини вимагає від вищих навчальних закладів постійного удосконалення педагогічного процесу з урахуванням досвіду традиційних медичних галузей та одночасним використанням новітніх медичних технологій для підвищення професійного рівня випускників вищих навчальних закладів і для підвищення конкурентоздатності самого навчального закладу, що потребує ширшого використання можливостей різноманітних високотехнологічних медичних закладів різних форм власності та підпорядкування для підготовки студентів-медиків.

#### Список літератури

1. Вища освіта України і Болонський процес: Навчальний посібник (за ред. В.Г. Кременя). – Тернопіль, 2004. – 384 с.
2. Мілерян В.Є. Методичні основи підготовки основи та проведення навчальних занять в медичних вузах / Мілерян В.Є. – К., 2006. – 80 с.
3. Основні засади розвитку вищої освіти України (в контексті Болонського процесу). – Київ-Тернопіль, 2004. – 147 с.
4. Підаєв А.В. Болонський процес в Європі / Підаєв А.В., Передерій В.Г. – К., 2004. – 192 с.
5. Стандарти і рекомендації щодо забезпечення якості в Європейському просторі вищої освіти. – К.: Ленвіт, 2006. – 35 с.

#### Відомості про авторів:

Авраменко Н.В., д. мед. н., доцент, зав. каф. акушерства, гінекології та репродуктивної медицини ФПО ЗДМУ.  
 Барковський Д.Є., д. мед. н., доцент каф. акушерства, гінекології та репродуктивної медицини ФПО ЗДМУ.  
 Нікіфоров О.А., к. мед. н., асистент каф. акушерства, гінекології та репродуктивної медицини ФПО ЗДМУ.  
 Кабаченко О.В., к. мед. н., асистент каф. акушерства, гінекології та репродуктивної медицини ФПО ЗДМУ.  
 Грідіна І.Б., асистент каф. акушерства, гінекології та репродуктивної медицини ФПО ЗДМУ.

#### Адреса для листування:

Авраменко Наталія Вікторівна, м. Запоріжжя, вул. Дивногорська, 5.  
 Тел.: (061) 224 00 10, 224 05 80. E-mail: zocrrfs@mail.ru

Надійшла в редакцію 27.03.2012 р.