

В.С. Бондар, Г.О.Бур'ян, К.О.Бур'ян, С.М. Полуян

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ З ФЛУКОНАЗОЛОМ ТА ХЛОРГЕКСИДИНУ БІГЛЮКОНАТОМ ЗА ДОПОМОГОЮ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: кандидоз, вагінальні супозиторії, флуконазол, хлоргексидину біглюконат, тонкошарова хроматографія.**Ключевые слова:** кандидоз, вагинальные суппозитории, флуконазол, хлоргексидина биглюконат, тонкослойная хроматография.**Key words:** candidias, vaginal suppositories, fluconazole, chlorhexidine digluconate, thin-layer chromatography.

Для ідентифікації флуконазолу та хлоргексидину біглюконату в вагінальних супозиторіях запропоновані умови хроматографічного виявлення за допомогою методу тонкошарової хроматографії.

Для идентификации флуконазола и хлоргексидина биглюконата в вагинальных суппозиториях предложены условия хроматографического обнаружения с помощью метода тонкослойной хроматографии.

For identification of fluconazole and chlorhexidine digluconate in vaginal suppositories the conditions of chromatography determination with the help of thin-layer chromatography method have been proposed.

На сьогоднішній день супозиторії як лікарська форма мають постійну тенденцію розвитку в вітчизняній та зарубіжній практиці. З кожним роком проводиться все більше досліджень у наукових відділах багатьох країн світу, зокрема й у Національному фармацевтичному університеті, по розробці складу та технології супозиторіїв як ректального так і вагінального призначення. Проте, на українському фармацевтичному ринку за 2006-2007 роки з'явилося не більше 5-8 найменувань лікарських препаратів промислового виробництва у формі супозиторіїв. Тому поява нових субстанцій, допоміжних речовин та сучасних технологій надає можливість постійно розширювати номенклатуру препаратів цієї лікарської форми. Також має сенс можливість вмісту вже перевірених субстанцій з таблетованих, м'яких, рідких та ін. лікарських форм у склад супозиторіїв [7, 9]. Це є особливо важливим у тих випадках, коли лікарський препарат протипоказано приймати орально, внутрішньовенно, внутрішньом'язово, як то при розладах шлунково-кишкового тракту, вагітності [5, 6]. Наприклад, у випадках захворювання жінок на вульвовагінальний кандидоз.

Частота цього захворювання за останні 10-12 років збільшилася вдвічі і складає 40-45 % у структурі інфекційних уражень вульви та піхви [2 - 6]. Кандидозний вульвовагініт – одна з найчастіших причин звернення жінок за медичною допомогою [2, 3, 5, 6].

Впровадження сучасних технологій до клінічної мікробіології дозволило поширити дослідження і показати, що негативний вплив факторів зовнішнього середовища на мікрофлору макроорганізму різної локалізації, наприклад піхви, веде до різноманітної патології, як запального, так і неzapального генезу [2 - 6].

Основна роль у виникненні вагінального кандидозу належить грибам роду *Candida albicans*, які виявляються у 95% випадків. Зараз відомо 196 видів грибів роду *Candida*, з них на слизових оболонках людини виділено більше 27 видів [4].

За даним літератури 75% жінок репродуктивного віку мали хоча б один епізод вагінального кандидозу [4 - 6].

В залежності від стану вагінального мікроценозу виділяють три форми *Candida* - інфекції піхви:

- безсимптомне кандидоносійство;

- гостра форма кандидозного вульвовагініту;

- хронічний рецидивуючий вагінальний кандидоз.

Перед призначенням терапії хронічного рецидивуючого вагінального кандидозу доцільне проведення оцінки мікробіоценозу піхви з ідентифікацією виду *Candida* та виявлення чутливості до антимікотиків [5, 6]. Терапія при лікуванні вульвовагінального кандидозу системна, тому місцеві засоби повинні бути лише головною ланкою у лікуванні.

До теперішнього часу розповсюдженим методом лікування кандидозу взагалі та кандидозного вульвовагініту, зокрема, було застосування системних протигрибкових засобів, таких як флуконазол [1, 2, 3, 15].

Механізм дії триазольного сполучення флуконазолу обумовлений інгибуванням синтезу ергостеролу кліткової мембрани гриба [8]. Він має високу ефективність при пероральному системному прийомі у випадку гострого кандидозного вульвовагініту.

Хлоргексидину біглюконат у хімічному відношенні є дихлорвмісним похідним бігуанідину. Він дає швидкий та сильний бактерицидний вплив на грампозитивні та грамнегативні бактерії, гриби. Препарат ефективний також у відношенні до збудників венеричних захворювань: трепонем, гонококів, трихомонад, що буде дуже доцільним при лікуванні кандидозної поліінфекції [15]. 0,05% розчин хлоргексидину біглюконату має фунгіцидну дію, а сумісності з супозиторною основою ПЕГ (1500-400) його фунгіцидна дія потенціюється і підвищується [10]. Тому одночасний вміст у вагінальних супозиторіях флуконазолу та хлоргексидину біглюконату забезпечує сильну та ефективну дію у відношенні до грибів роду *Candida* та на супутні з кандидозом мікроорганізми.

Перед нами поставлена мета створення аналітичної нормативної документації для розробляемого вагінального протигрибкового засобу з флуконазолом та хлоргексидином біглюконатом у формі супозиторіїв на гідрофільній основі.

Метою даної роботи є розробка методики ідентифікації вагінальних супозиторіїв, що містять флуконазол та хлоргексидину біглюконат (супозиторною основою є ПЕГ 1500 та ПЕГ 400 (95:5)) за допомогою методу тонкошарової хроматографії (ТШХ) (як один з можливих варіантів для



ідентифікації досліджуваної вищезазначеної лікарської форми).

Для цього нами попередньо вивчено поведінку досліджуваних лікарських речовин та гідрофільної супозиторної основи у різних системах розчинників на пластинках Сорбфіл (що обумовлено їх доступністю та досить низькою вартістю) [11, 12, 14].

Встановлено чутливість проявників стосовно флуконазолу та хлоргексидину біглоконату: реактив Драгендорфа, модифікований за Муньє – 10 мкг ($1 \cdot 10^{-5}$ г) для препаратів в пробі, пари йоду – 25 мкг ($2,5 \cdot 10^{-5}$ г) в пробі та УФ-опромінення – 2 мкг ($2 \cdot 10^{-6}$ г) в пробі. Для хлоргексидину біглоконату встановлено чутливість з 5% розчином феруму (III) хлориду, яка склала 20 мкг ($2 \cdot 10^{-5}$ г) в пробі.

При послідовній обробці хроматографічних пластин розчином феруму (III) хлориду та реактивом Драгендорфа, модифікованим за Муньє, плями флуконазолу були забарвлені у темно-коричневий колір; плями хлоргексидину біглоконату – у коричневий колір; супозиторна основа набувала оранжевого кольору.

Для хроматографування були обрані системи розчинників кислого (бутанол Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р у концентраціях 4:1:1 та 4:1:3, 2-пропанол Р – хлороформ Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р (60:30:2,5:7,5), толуол Р – льодяна оцтова кислота Р (3:1), бутанол Р – мурашина кислота Р – вода Р (4:1:1)), нейтрального (метанол Р, метанол Р – хлороформ Р (1:9)) та лужного (етилацетат Р – метанол Р – розчин аміаку концентрований Р (85:10:5), метанол Р – розчин аміаку концентрований Р (9:1), 2-пропанол Р – хлороформ Р – розчин аміаку концентрований Р (60:30:10)) характеру. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

Таблиця 1.

Значення Rf₁₀₀ для флуконазолу, хлоргексидину біглоконату та супозиторної основи (ПЕГ 1500-ПЕГ 400(95:5)) в різних системах розчинників (середнє з 5 визначень)

Препарат	Система розчинників									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Флуконазол	55	75	85	38	55	76	71	67	77	78
Хлоргексидину біглоконат	17	56	32	35	53	28	3	3	37	35
Основа супозиторна	37	35	55	22	36	56	69	44	44	80

Примітка: 1 - бутанол Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р (4:1:1); 2 - бутанол Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р (4:1:3); 3 - 2-пропанол Р – хлороформ Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р (60:30:2,5:7,5); 4 – толуол Р – льодяна оцтова кислота Р (3:1); 5 - бутанол Р – мурашина кислота Р – вода Р (4:1:1); 6 - метанол Р; 7 - метанол Р – хлороформ Р (1:9); 8 - етилацетат Р – метанол Р – розчин аміаку концентрований Р (85:10:5); 9 - метанол Р – розчин аміаку концентрований Р (9:1); 10 - 2-пропанол Р – хлороформ Р – розчин аміаку концентрований Р (60:30:10).

Встановлено, що з п'яти систем найбільш придатною є система бутанол Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р (4:1:3), в якій Rf₁₀₀ флуконазолу складає 75, хлоргексидину біглоконату складає 56; та Rf₁₀₀ основи – 35.

Після цього нами перевірено розподільчу здібність різних шарів-носіїв стосовно досліджуваних речовин. Ці дослідження проводили з використанням пластинок для ТШХ Merk, ВЕТШХ та Сорбфіл.

При проведенні даних досліджень використовували випробуваний розчин, для приготування якого використовували супозиторії з флуконазолом та хлоргексидину біглоконатом, та розчини речовин-свідків.

Як зразки речовин-свідків використовували фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) флуконазолу, стандартний робочий зразок (СРЗ) ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5) та (СРЗ) хлоргексидину біглоконату.

На хроматограмі випробуваного розчину виявлялись плями на рівні: плями розчину стандартного зразку речовини-свідка (СЗРС) флуконазолу плями розчину СЗРС хлоргексидину біглоконату та плями розчину СЗРС ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5), відповідні ним за розміром та забарвленням [11, 13, 14].

Найбільш придатною з використаних пластинок для ТШХ визначено пластинку Merck (Силікагель 60 F254). Дані досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2.

Значення Rf₁₀₀ для флуконазолу, хлоргексидину біглоконату та супозиторної основи (ПЕГ 1500-ПЕГ 400(95:5)) в системі бутанол Р – оцтова кислота Р – вода Р (4:1:3) на різних пластинках для ТШХ (середнє з 5 визначень)

Препарат	Пластинок для ТШХ		
	Сорбфіл	Merck	ВЕТШХ
Флуконазол	75	76	75
Хлоргексидину біглоконат	56	55	58
Основа супозиторна	35	33	37

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Методика випробування на флуконазол, хлоргексидину біглоконат та ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5) методом ТШХ:

2,0 г подрібнених супозиторіїв (один супозиторій) розчиняють в хлороформі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл (випробуваний розчин). На лінію старту хроматографічної пластини, попередньо активованої протягом 30 хв при температурі від 100 до 110°C, наносять 10 мкл випробуваного розчину, 10 мкл стандартного зразку речовини-свідка (СЗРС) флуконазолу (5 мкг), 10 мкл розчину СЗРС ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5) (191 мкг) та 10 мкл розчину СЗРС хлоргексидину біглоконату (4 мкг). Пластинку сушать на повітрі протягом 20 хв. та вміщують в камеру із сумішшю розчинників: бутанол Р – льодяна оцтова кислота Р – вода Р (4:1:3) й хроматографують методом вертикального елюювання. Коли фронт розчинників пройде до кінця пластинки її виймають з камери, сушать на повітрі протягом 5 хв, потім переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

На хроматограмі випробуваного розчину має виявля-

тися пляма на рівні плям розчину СЗРС флуконазолу, розчину СЗРС хлоргексидину біглюконату та розчину СЗРС ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5), відповідні ним за розміром та забарвленням.

Приготування розчину СЗРС флуконазолу:

Близько 0,050 г (точна наважка) флуконазолу (ФСЗДФУ або ЕР CRS) розчиняють в метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл.

Приготування розчину СЗРС хлоргексидину біглюконату:

Близько 0,040 г (точна наважка) стандартного робочого зразку (СРЗ) хлоргексидину біглюконату в метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл.

Приготування розчину СЗРС ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5):

Близько 0,1910 г (точна наважка) стандартного робочого зразку (СРЗ) ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5) розчиняють в метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл.

ВИСНОВКИ

1. Вивчено умови виявлення флуконазолу та хлоргексидину біглюконату за допомогою хроматографії в тонкому шарі сорбента.

2. Встановлено чутливість реактивів, які придатні для використання в якості проявників при виявленні флуконазолу, хлоргексидину біглюконату та ПЕГ 1500-ПЕГ 400 (95:5) під час ТШХ-досліджень.

3. Запропоновано методику ідентифікації флуконазолу

та хлоргексидину біглюконату у вагінальних супозиторіях за допомогою ТШХ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вовнова Г.В., Бурова С.А. // Пульмонологія, 2001. - №1. С. 35-36.
2. Климко Н.Н., Васильєва Н.В., Антонов В.Б. и др. // Проблемы медицинской микологии, 2001. - Т.3, №3. - С.12-25.
3. Климко Н.Н., Васильєва Н.В., Елинов Н.П. и др. Перечень основных методов и критериев диагностики микозов. - СПб., 2001. - 24 с.
4. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. - М., 2001. - 472 с.
5. Антонов В.Б., Мирзабалаева А.К., Шевяков М.А. // Вестник дерматологии и венерологии, 1994. - №2. - С.18-19.
6. Тютюнник В.Л. // Фарматека. - 2003. - №8. - С.15-18.
7. Марченко Л.Г., Русак А.В., Сметова И.Е. Технология мягких лекарственных форм. - СпецЛит, 2004. - 196 с.
8. Лекарственные препараты Украины. / Под ред. В.П. Черных, И.А. Зупанца. - Харьков: золотые страницы, 2005-512 с.
9. Промышленное производство мягких лекарственных форм. Рук-во к лаб. занятиям. / Под редакцией Чуешова В.И. - Харьков, 2000. - 80 с.
10. Коломойцева Т.Н. // Материалы регионально научно-практической конференции. - Пермь, 2003. - С.76-78.
11. British Pharmacopoeia Version 11 and Supplements, 2007. - CD.
12. Clarke's Analysis of drugs and poisons. - CD.
13. European Pharmacopoeia. Fourth edition and Supplement, 2004. Council of Europe, Strasbourg. - CD.
14. European Pharmacopoeia. Fifth edition and Supplement, 2006. Council of Europe, Strasbourg. - CD.
15. John H. Block, John M. Beale, Jr. Organic, Medicinal and Pharmaceutical chemistry. - Philadelphia: Lippincott, Williams & Wikins, 2004. - 991 p.

Відомості про авторів: Бондар Володимир Степанович – професор, завідувач кафедри токсикологічної хімії НФаУ 61168 Харків, вул. Блюхера, 4 (0572) 67-91-92

Бур'ян Ганна Олександрівна – доцент кафедри фармацевтичної хімії НФаУ 61168 Харків, вул. Блюхера, 4 (0572) 67-92-04

Полуян Світлана Михайлівна – доцент кафедри токсикологічної хімії НФаУ 61168 Харків, вул. Блюхера, 4 (0572) 67-91-92

Бур'ян Катерина Олександрівна – аспірант кафедри промислової технології НФаУ 61168 Харків, вул. Блюхера, 4 (0572) 67-57-97

УДК: 645.322:615.272.3:615.272.4:615.272.6

Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, Г.Б. Кравченко, І.В. Сенюк, О.В. Файзуллін

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ГИЧКИ БУРЯКА ЗВИЧАЙНОГО «БЕВУГЕПАТИНУ» НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ РЕЧОВИН

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: лікарські засоби рослинного походження; засоби, що впливають на обмін речовин.

Ключевые слова: лекарственные средства растительного происхождения; средства, влияющие на обмен веществ.

Key words: herbal medicines; agents, which influence metabolism process

Проведено експериментальне дослідження впливу екстракту «Бевугепатин», одержаного з надземної частини буряка звичайного (*Beta vulgaris*) на ключові показники ліпідного, білкового та вуглеводного обміну. Експериментальні дані показали, що бевугепатин поряд з референс-препаратом – α -токоферолом — нормалізують ліпідний, вуглеводний обмін та стимулюють білоксинтезуючу функцію печінки. Нормалізуючий ефект досягається за рахунок стабілізації та захисту клітинних мембран гепатоцитів, що, ймовірно, пов'язано з антиоксидантною та гепатопротекторною дією флавоноїдів досліджуваного екстракту.

Проведено експериментальное изучение влияния экстракта „Бевугепатин“, полученного из надземной части свеклы обыкновенной (*Beta vulgaris*) на ключевые показатели липидного, белкового и углеводного обмена. Экспериментальные данные показали, что бевугепатин наряду с референс-препаратом – α -токоферолом — нормализует липидный, углеводный обмен и стимулирует белоксинтезирующую функцию печени. Нормализующий эффект достигается за счет стабилизации и защиты клеточных мембран гепатоцитов, что, вероятно, связано с антиоксидантным и гепатопротекторным действием флавоноидов, входящих в состав исследуемого экстракта.

There was conducted an experimental research of “bevugepatin” extract, harvested off red beet tops, influence on key characteristics of lipidic, protein and carbohydrate exchange. The experimental data showed bevugepatin – along with the reference drug (of comparison) α -tokopherol – normalizes lipidic and carbohydrate exchange and stimulates protein synthesis function of liver. Normalization effect is reached by means of stabilization and protection of hepatocytes' cells membranes. This, probably, is connected with antioxidant and hepatocyte-tread effect of flavonoids, constituent in the extracts under study.

Характерною рисою сьогодення є перегляд класичних підходів до лікування. Стрімкий розвиток медичної науки та фармацевтичної промисловості вирішує чимало проблем, але і нині не завжди вдається досягти очікуваної терапевтичної дії тих або інших препаратів,

підібраних згідно зі стандартами лікування. Очевидно, це відбувається через втрату індивідуалізації лікування конкретного пацієнта, певної непередбачуваності набору тих адаптаційних реакцій, якими відповідає організм людини на будь-який вплив (у т.ч. і на дію лікарського засобу).

©Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, Г.Б. Кравченко, І.В. Сенюк, О.В. Файзуллін, 2008