

УДК 619:616:543.544

**А. М. ШЕВЧЕНКО**, кандидат ветеринарних наук  
ТОВ «Бровафарма»

**А. В. ЛИСИЦЯ**, кандидат біологічних наук  
Інститут епізоотології УААН

### МОНІТОРИНГ СТАБІЛЬНОСТІ ЕКТОСАНУ™ З ВИКОРИСТАННЯМ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ МЕТОДІВ

*У статті наведені результати мас-спектрометричної оцінки ветеринарного препарату Ектосан™, виробництва ТОВ «Бровафарма». Результати досліджень на предмет стабільності готової лікарської форми та робочих водних розчинів показали, що в препараті Ектосан™ на протязі 30 місяців моніторингу чітко ідентифікувались характерні піки іонів, які належали альфаметрину та піперонілбутоксиду – основним діючим компонентам даного інсектоакарициду. Його робочі водні розчини виявились стабільними протягом 110 діб.*

*Ключові слова:* Ектосан™, інсектоакарициди, мас-спектрометрія, стабільність препарату, сумісність компонентів.

Пестициди займають вагомe місце у комплексних програмах, направлених на зниження чисельності ектопаразитів тварин, які наносять значних економічних збитків сільському господарству. В умовах сьогодення однією з найбільш вживаних груп інсектоакарицидів є синтетичні піретроїди. На їх основі виготовляють велику кількість препаративних форм (емульгуючі концентрати, вушні бирки, нашийники, порошки, мікрокапсульовані емульсії, тощо) [1].

В практиці ветеринарної медицини нашої країни широкого застосування набули інсектоакарициди вітчизняного та закордонного виробництва, які містять в якості діючих речовин піретроїди, частіше дельтаметрин чи циперметрин. Їх застосування призводить до загибелі членистоногих в результаті надмірної стимуляції центральної та периферійної нервової системи [2]. Однак, використання таких однокомпонентних лікарських засобів швидко призводить до формування резистентних популяцій. З іншого боку, створення комбінованих препаратів дозволяє в 2-2,5 рази довше використовуватись в одному регіоні без необхідності їх ротації та успішно боротися з наявними лікоопірними расами паразитів [3].

Враховуючи вище викладене, нами розроблено ветеринарний препарат Ектосан™ на основі двох діючих речовин альфаметрину та піпероніл-бутоксиду, у формі розчину. Однак, при конструюванні багатоконпонентних препаратів особливого значення набуває визначення термінів їх стабільності, як у готовій лікарській формі так і в робочих розчинах.

Попередні лабораторні дослідження показали, що препарат Ектосан™ володіє відносно не дуже великою токсичністю (III клас токсичності) та, водночас, проявляє високі інсектоакарицидні властивості і є дозволим для застосуванням коровам у період лактації [4-7]. Проведений мас-спектрометричний аналіз підтвердив фармацевтичну сумісність його основних біологічно активних речовин [8].

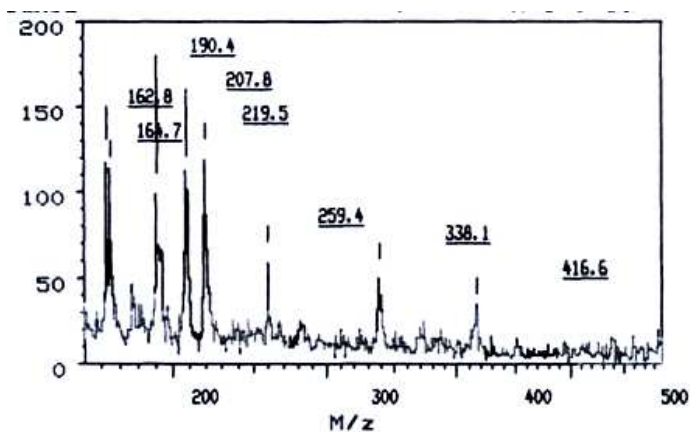
**Мета досліджень.** Метою роботи було визначення максимальних термінів зберігання готової лікарської форми та з'ясування стабільності у робочому водному розчині препарату Ектосан™.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено на базі лабораторії диференційної діагностики Інституту епізоотології УААН. Як основний експериментальний фізико-хімічний метод застосовували мас-спектрометрію в варіанті ПДМС (часопролітна плазмово-десорбційна мас-спектрометрія).

Дослід проводили на мас-спектрометрі біохімічному МСБХ-01 з іонізацією зразка уламками ділення ядер Cf-252 (АТ «SELMI», м. Суми, Україна). Підготовка зразків до мас-спектрометричних досліджень і самі експерименти проводилися за випробуваними методиками спеціально валідованими для методу ПДМС [9].

Мас-спектри Ектосану™ знімали через 5, 11, 14 та 30 місяців після зазначеної дати виготовлення препарату, а також після витримки його у робочому водному розчині протягом 110 діб при кімнатній температурі в темному місці. В процесі цих досліджень використовували прискорюючі напруги роботи МСБХ-01 +10 кВ або -10 кВ, тобто, знімали мас-спектри як позитивних, так і негативних іонів. Об'єм накопичуваних даних подій розпаду  $^{252}\text{Cf}$  (стартів) – від 4 000 до 12 000, ширину каналу детектування – 1 нс/канал, з режимом віднімання постійного фону. На рисунках наведено мас-спектри отримані за допомогою спеціальної комп'ютерної програми керування, накопичення та обчислення даних (МСБХ, версія 4.0/m). На вісі абсцис відкладається  $m/z$ , тобто, відношення маси іону ( $m$ ) до його заряду ( $z$ ). Для однозарядних іонів – це фактично їх маса. По вісі ординат – кількість накопичених іонів (інтенсивність піків).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** До складу препарату Ектосан™ в якості основних діючих речовин введено **альфаметрин і піпероніл-бутоксид** у носіїві з комплексу органічних розчинників. Через 5 місяців після його виготовлення, під час мас-спектричних досліджень, ідентифіковано характерні піки іонів обох інгредієнтів. Так, в „+” іонах пік  $m/z$  338,1 належить молекулярному іону  $[\text{M}]^+$  піпероніл-бутоксиду, а пік – 416,6 альфаметрину (рис. 1).



**Рис. 1.** Мас-спектр Ектосану™ в „+” іонах через 5 місяців з дати виготовлення.

При цьому, наявна низка характерних фонових іонів  $m/z$  162,8, 190,4, 207,8, 219,5.

У „-” іонах, як показано на рисунку 2, пік  $m/z$  208,1 належить двозарядному іону альфаметрину  $[M + 2e]^{2-}$ , а  $m/z$  415,4 – його квазімолекулярному іону (далі КМІ)  $[M - H]^{-}$ .

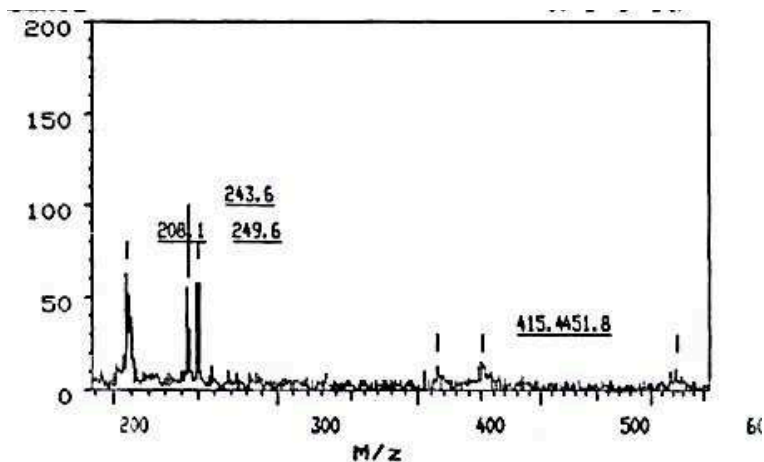


Рис. 2. Мас-спектр Ектосану™ в „-” іонах через 5 місяців з дати виготовлення.

Пік  $m/z$  451,8 – є також КМІ альфаметрину  $[M + Cl]^{-}$ . Спостерігаються характерні фонові піки  $m/z$  243,6, 249,6, та з'являється невеликий  $m/z$  624.

На мас-спектрі препарату Ектосан™, знятому через 11 місяців після виготовлення, також виявлені характерні піки іонів обох активно діючих речовин. Як видно на рисунку 3, в „+” іонах показник 338,4 належить молекулярному іону  $[M]^{+}$  піпероніл-бутоксиду, а пік  $m/z$  416,6 – молекулярному іону  $[M]^{+}$  альфаметрину.

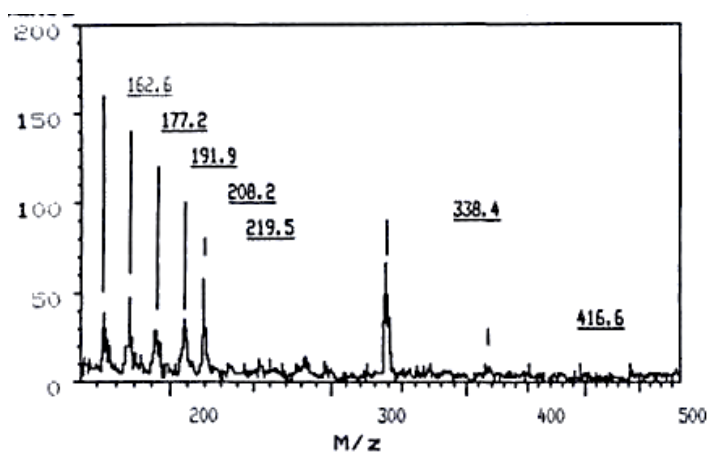


Рис. 3. Мас-спектр Ектосану™ в „+” іонах через 11 місяців з дати виготовлення.

На даному мас-спектрі Ектосану™ також наявна низка характерних фонових іонів  $m/z$  162,6, 208,2, 219,5 та ін.

В „-” іонах пік  $m/z$  208,3 належить двозарядному іону альфаметрину  $[M + 2e-]2-$ , а 416,6 – його КМІ  $[M + e-]$ - (рис. 4).

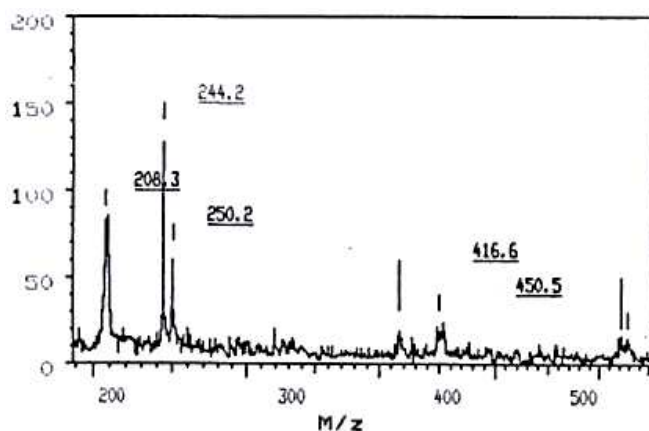


Рис. 4. Мас-спектр Ектосану™ в „-” іонах через 11 місяців з дати виготовлення.

Найбільш ймовірно, що показник піку  $m/z$  450,5 є також КМІ альфаметрину  $[M + Cl-]$ . Крім цього присутні характерні фонові піки  $m/z$  244,2 і 250,2, та знову проявлені неідентифіковані піки в районі  $m/z$  621-629.

Мас-спектрометрична оцінка препарату Ектосан™, проведена через 14 місяців після його виготовлення, показала наявність характерних піків іонів обох інгредієнтів. На рисунку 5, в „+” іонах показник 338,0 належить молекулярному іону  $[M]+$  піпероніл-бутоксиду, а пік  $m/z$  416,0 – молекулярному іону  $[M]+$  альфаметрину.

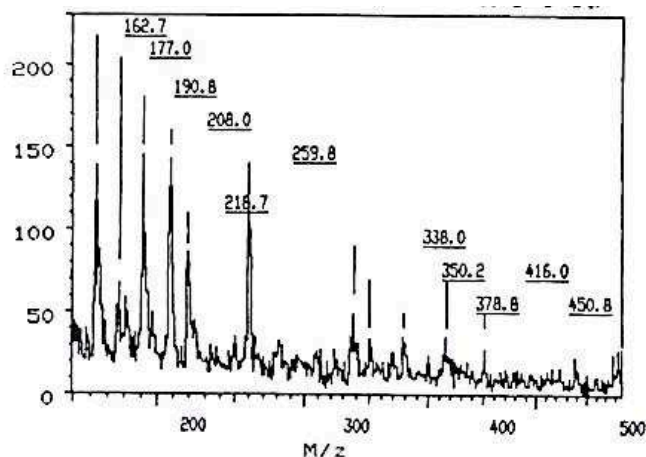
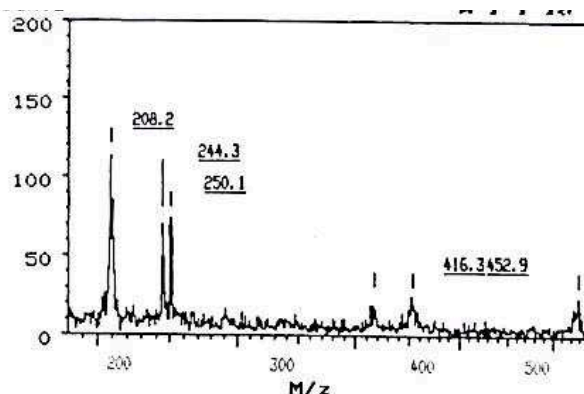


Рис. 5. Мас-спектр Ектосану™ в „+” іонах через 14 місяців з дати виготовлення.

Характерна низка фонових іонів спостерігається в межах  $m/z$  162,7- 218,7 та з'являється кілька нових піків – 350,2, 378,8 та 450,8.

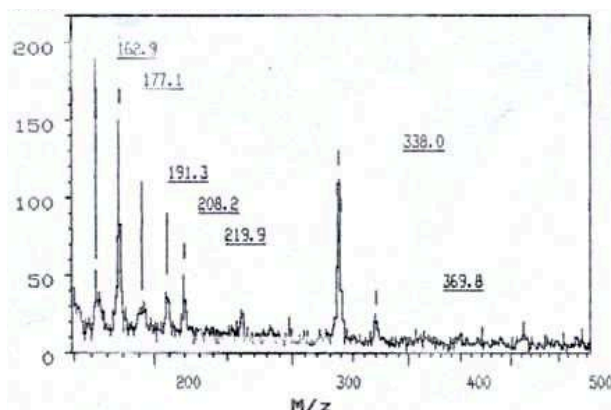
В „-” іонах, що показано на рисунку 6  $m/z$  208,2 належить двозарядному іону альфаметрину  $[M + 2e]^{2-}$ , а 416,3 – його КМІ  $[M + e]^{-}$ .



**Рис. 6. Мас-спектр Ектосану™ в „-” іонах через 14 місяців з дати виготовлення.**

Показник  $m/z$  452,9 – близький до КМІ альфаметрину  $[M + Cl]^{-}$ . На даному мас-спектрі також присутні характерні фонові піки  $m/z$  244,3 та 250,1 і неідентифіковані піки в межах  $m/z$  621-629.

На мас-спектрі препарату ектосан, знятому через 30 місяців після виготовлення, характерні піки іонів БАР були знову виявлені. В „+” іонах значення 338,0 належить молекулярному іону  $[M]^+$  піпероніл-бутоксиду (рис. 7).



**Рис. 7. Мас-спектр Ектосану™ в „+” іонах через 30 місяців з дати виготовлення.**

Відмічено характерні фонові іони  $m/z$  163-220.

У „-” іонах, що на рисунку 8  $m/z$  208,5 належить двозарядному іону альфаметрину  $[M + 2e]^{2-}$ , а  $m/z$  415,6 – його молекулярному іону  $[M]^{-}$ . Є також, кілька характерних фонових іонів, зокрема  $m/z$  244,3 та 250,1.

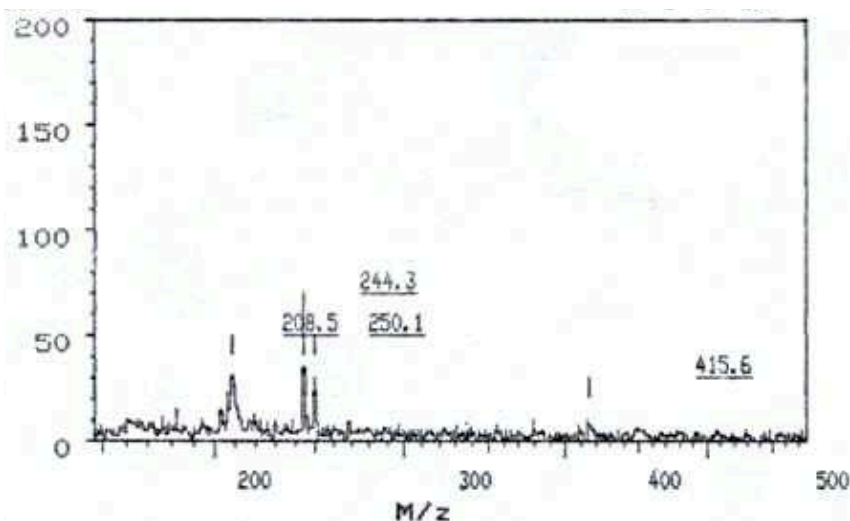


Рис. 8. Мас-спектр Ектосану™ в „-” іонах через 30 місяців з дати виготовлення.

Мас-спектрометричні дослідження робочого розчину Ектосану™, знятому через 110 днів після розведення препарату водою, показали наявність характерних піків іонів обох діючих речовин. У «+» іонах показник з позначкою 337,8 належить молекулярному іону [M]+ піпероніл бутоксида, а пік m/z 416,2 – є молекулярним іоном [M]+ альфаметрину (рис. 9).

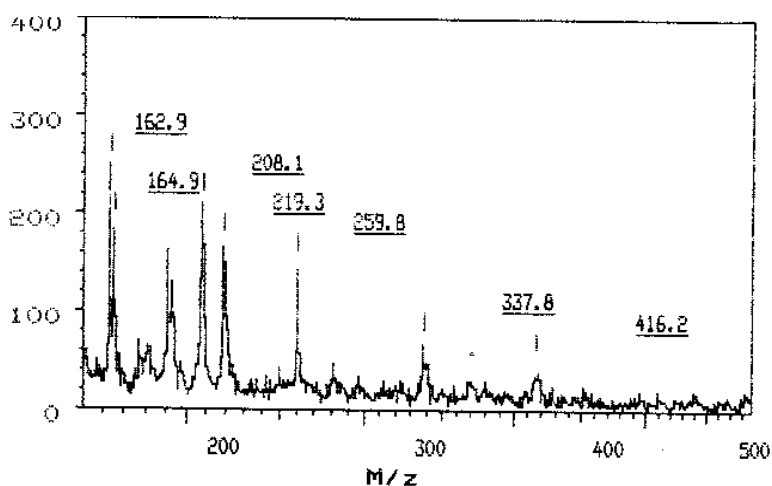
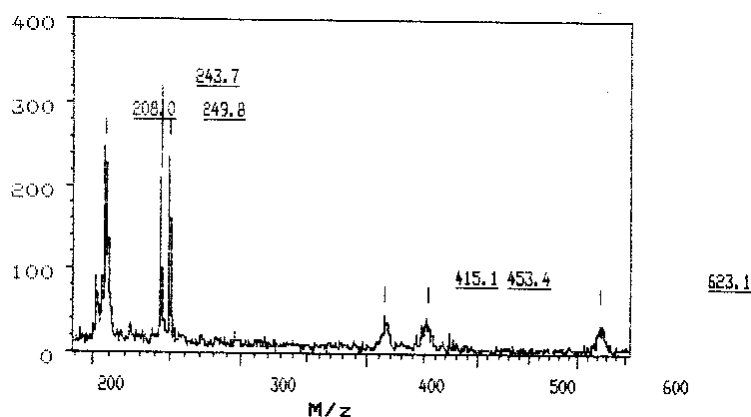


Рис. 9. Мас-спектр робочого розчину Ектосану™ в „+” іонах на 110 добу після розведення.

Низка характерних фонових іонів наявна в межах m/z 162,9-219,3. У «-» іонах, що відображено на рисунку 10 пік m/z 208,0 належить двозарядному іону альфаметрину [M + 2e-]2-, а m/z 415,1 – його КМІ [M - H+].



**Рис. 10. Мас-спектр робочого розчину Ектосан™ в „-” іонах на 110 добу після розведення.**

Пік  $m/z$  453,4 – близький до КМІ альфаметрину  $[M + Cl]^-$ . Крім того, присутні характерні фонові піки  $m/z$  244, 250 і не ідентифіковані піки в районі  $m/z$  623.

Як видно з наведених мас-спектрів, незважаючи на погану „летючість” обох БАР, все ж у препараті Ектосан™ на протязі 30 місяців моніторингу можна чітко ідентифікувати кілька характерних піків іонів, що належать альфаметрину та піпероніл-бутоксиду, а в його робочому водному розчині їх піки присутні ще на 110-ту добу.

#### **Висновки**

1. В складі препарату Ектосан™ обидві активно діючі речовини є фармацевтично сумісними.
2. Доведено, що термін гарантованої придатності препарату Ектосан™ при зберіганні в приміщенні з природним чи штучним освітленням та коливанням температур від  $+1$  °C до  $+27$  °C можна установити продовж 24-х місяців з дати виготовлення.
3. Робочі водні розчини даного інсекто-акарициду є стабільними протягом 110 діб при умові зберігання в темному місці при кімнатній температурі.

**Перспективи подальших досліджень.** Як видно з проведених досліджень, препарат Ектосан™ є стабільною лікарською формою інсектоакарициду. В подальшому планується продовжити дослідження його впливу на продуктивність тварин.

1. Тимофеев Б. А. Биорекс – новое противочесоточное средство на основе циперметрина / Б. А. Тимофеев, Г. В. Кирюткин, В. О. Бондаренко и др. // Ветеринария. – 1997. – №3. – С. 54-58.

2. Каталог ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок для тварин, зареєстрованих і дозволених для використання в Україні / Під редак. І. Ю. Бісюка. – К., 2006. – 170 с.

3. Rolfe P. F. Anthelmintic resistance in Australia, its development and management / P.F. Rolfe // Abstract 4th International Sheep Veterinary Conference, Feb. 2-4 1977, Armidale Australia. – P. 51.

4. Євстаф'єва В. О. Вивчення *in vitro* акарицидної активності препарату „Ектосан™” відносно кліщів роду *Sarcoptes* / В. О. Євстаф'єва, Березовський А. В. // Науковий вісник ЛНУ вет. мед. та біотехн. імені С. З. Гжицького. – Львів, 2008. – Т. 10, № 2 (37). – Ч.1. – С. 84-87.

5. Шевченко А. М. Ефективність ектосану в боротьбі з ектопаразитами тварин / А.М. Шевченко, Н.М. Сорока, В.Ф. Галат, В.А. Чорний // Науковий вісник НУБіПУ. – К, 2010. – Вип. 151. – Ч.2. – С.206-208.

6. Шевченко А. М. Визначення акарицидної ефективності препарату «Ектосан» при хоріоптозі великої рогатої худоби / А. М. Шевченко // Матер. науково-практ. конф. викладачів, аспірантів та студентів Сумського НАУ. – Суми, 2009. – С. 54.

7. Шевченко А. М. Експериментальне визначення залишкових кількостей альфаметрину в молоці корів після обробки їх терапевтичною дозою препарату Ектосан / А.М. Шевченко // Науково-технічний бюлетень. – Львів. – 2009. – Випуск 10. №3. – С. 459-463.

8. Шевченко А. М., Лисиця А. В. Мас-спектрометрична оцінка ЕКТОСАНУТМ – нового комбінованого інсектоакарициду / А. М. Шевченко, А. В. Лисиця // Науково-технічний бюлетень. – Львів. – 2009. – Випуск 10. №4. – С. 554-558.

9. Деклараційний патент 47720 А Україна, МПК G01N33/50. Спосіб визначення хімічної сумісності біологічно активних речовин за допомогою мас-спектрометрії / А.В.Лисиця, М.С.Мандигра (UA). – 2001085672; Заявлено 09.08.2001; Опубліковано 15.07.2002, Бюл.№7.

**МОНИТОРИНГ СТАБИЛЬНОСТИ ЭКТОСАНА™ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ/  
А.Н. Шевченко, А. В. Лисица**

*В статье приведены результаты масс-спектрометрической оценки ветеринарного препарата Эктосан™, производства ООО «Бровафарма». Результаты исследований на предмет стабильности готовой лекарственной формы и рабочих водных растворов показали, что у препарата Эктосан™ на протяжении 30 месяцев мониторинга четко идентифицируются характерные пики ионов, которые принадлежат альфаметрину и пиперонилбутоксиду – основным действующим компонентам инсектоакарицида. Его рабочие водные растворы оказались стабильными в течение 110 суток.*



**MONITORING STABILITY OF EKTOSAN™ WITH USING PHYSICAL AND CHEMICAL METHODS/ A.N. Shevchenko, A.V. Lisitsa**

*The article presents the results of mas-spectrometric estimation of veterinary preparation Ektosan™, produced by «Brovapharma» Ltd. The research results for the stability of the finished dosage form and working aqueous solutions showed that the preparation Ektosan™ during 30 months of monitoring, are clearly identified of characteristic peaks of the ions, which belong to alphas-methrine and piperonylbutoxide – the basic active components of insectoacaricide. Its working aqueous solutions were stable during 110 days.*

**Рецензент – доктор ветеринарних. наук, професор А. В. Березовський.**