

**Таблица 2. Влияние ФС земляники лесной на ориентировочное поведение мышей в открытом поле**

Условия эксперимента	Горизонтальные перемещения $M \pm m$	Вертикальные перемещения $M \pm m$	Обследование отверстий $M \pm m$
Контроль изотон. р-р хлорида натр. ФС 100 мг/кг Р (статист. показатель)	$18,9 \pm 3,9$ $8 \pm 1,43$ $< 0,002$	$4,3 \pm 0,66$ $2,0 \pm 0,44$ $< 0,05$	$38 \pm 3,4$ $12,7 \pm 2,6$ $< 0,002$

пе животных продолжительность сна составила в среднем  $11 \pm 2$  мин, то у животных опытной группы (ФС земляники + тиопентал натрия) сон продолжался  $82 \pm 3,2$  мин, т.е. в 7,3 раза дольше ( $P < 0,001$ ). Отмечено также удлинение в 3 раза продолжительности сна подопытных животных после введения хлоралгидрата.

Сумма ФС земляники не нарушала координации движений. Животные контрольной группы удержались на вращающемся стержне  $1,1 \pm 0,06$  мин, а животные опытной группы -  $1,2 \pm 0,1$  мин (разница статистически не достоверна).

В проведенных опытах не выявили существенного влияния препаратов земляники на тонус мышц и скорость проявления ориентировочных рефлексов. Так, время подъема мышей по наклонной сетке составляло в контрольной группе в среднем  $1,5 \pm 3,3$  сек., а в опытной группе животных -  $23,2 \pm 5,8$  сек. Однако, различие между показателями опытной и контрольной группы оказалось не достоверным.

Противосудорожное действие суммы ФС было выявлено в опытах с коразоловыми и стрихниновыми судорогами. ФС земляники удлиняют латентный период судорог, вызванных действием коразола в 2,5 раза ( $P < 0,05$ ) и удлиняют латентный период стрихниновых судорог в 1,8 раза ( $P < 0,05$ ). Кроме того, сумма ФС подавляет фазу тонической экстензии судорожного припадка, вызванного введением коразола и уменьшает в 3 раза ( $P < 0,05$ ) продолжительность судорог.

Следует отметить, седативное действие суммы ФС

земляники лесной не сопровождается расслаблением мышц и угнетением ориентировочных рефлексов, что отличает землянику лесную от известных седативных средств и транквилизаторов. В литературе мы не нашли данных о нейротропных свойствах земляники лесной.

#### **Выводы.**

Сумма фенольных соединений земляники лесной в дозе 50-100 мг/кг обладает нейротропной и диуретической активностью.

#### **Литература:**

1. Куркин, В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов / В.А. Куркин. - Самара: Сам ГМУ, 2004. - С. 787-789.
2. Садикова, В.К. Сравнительное изучение токсичности и диуретической активности листьев и плодов земляники лесной / В.К. Садикова, М.М. Коноплёва // Материалы VIII съезда фарм. работников Респ. Беларусь. - Витебск, ВГМУ, 2010. - С. 544-547.
3. Берхин, Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин / Хим.-фарм. журнал. - 1977. - №5. - С. 3-11.
4. Феназепам / Т.А. Воронина [и др.]. - Киев, 1982. - С. 145-151.
5. Беленький, Л.М. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / Л.М. Беленький. - Л., 1963. - 52 с.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОЛОН ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ В ОРГАНИЗМ**

**Федорук С.Л., Шляхтин С.В., Трухачева Т.В., Исаков Г.А., Хейдоров В.П.  
РУП "Белмедпрепараты"**

**УО "Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет"**

**Введение.** В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из самых перспективных методов лечения онкологических заболеваний. К числу перспективных фотосенсибилизаторов, использующихся в ФДТ, относится хлорин еб, на основе которого специалистами РУП "Белмедпрепараты" (Республика Беларусь) разработан препарат Фотолон, который представляет собой молекулярный комплекс хлорина еб и поливинилпирролидона (ПВП). Однако, несмотря на достаточно большое количество работ, направленных на выяснение физико-химических и фармакологических свойств Фотолон [1-3], его фармакокинетика и биодоступность

в отношении целевых органов и тканей недостаточно хорошо изучены, что существенно затрудняет разработку новых лекарственных форм, более удобных для медицинского применения как в клинических, так и в амбулаторных условиях. Поэтому актуальной является задача получения методики определения хлорина еб в плазме крови.

**Цель.** Разработка и апробация методики ВЭЖХ при исследовании фармакокинетики фотосенсибилизатора Фотолон при различных способах введения в организм.

**Материал и методы.** Исследования фармакокинетики ФС Фотолон в условиях однократного внутривенного

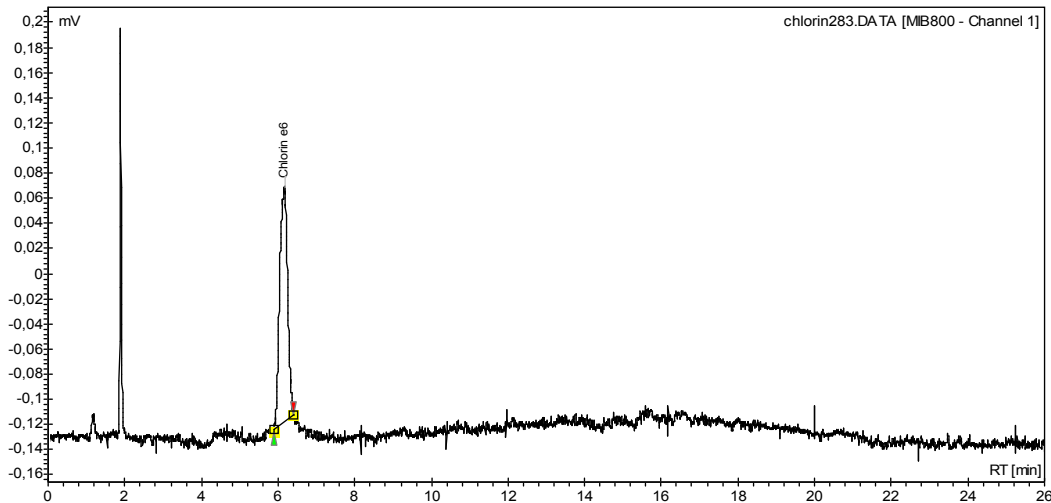


Рис. 1. Хроматограмма образца Фотолон в плазме с концентрацией хлорина е6, равной 152 нг/мл.

введения были выполнены на кроликах породы Шиншилла обоего пола. При изучении параметров фармакокинетики ФС Фотолон вводили внутривенно (в ушную вену), однократно, в дозе 5,0 мг/кг массы тела животного.

Экстракцию ФС Фотолон из плазмы крови осуществляли следующим образом: к аликвоте плазмы объемом 0,5 мл приливали 0,2 мл 10%-го раствора мочевины в диметилсульфоксиде и перемешивали на вортекс-миксере Genius-3 (IKA WERKE, Германия) в течение 1-2 мин. Затем прибавляли 0,8 мл метанола и, после интенсивного перемешивания в течении 1 мин, центрифугировали в течение 10 мин при 10000 g. Полученный супернатант фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и использовали для хроматографического анализа.

Анализ количественного содержания хлорина е6 проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Varian, включающем насос Varian 9012 и флуориметрический детектор Varian Pro Star. Процесс разделения осуществлялся на колонке Waters XTerra RP-18 150x4.6 mm при градиентном элюировании подвижных фаз А (0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде) и В (0,1% раствор трифторуксусной кислоты в ацетонитриле). Анализ проводился при длине волны возбуждения - 407 нм, длине волны эмиссии детектора - 661 нм. Температура колонки - 40°C, объем вводимой пробы - 100 мкл. Количественное определение ФС Фотолон в образцах

плазмы крови проводили методом абсолютной калибровки с использованием программного обеспечения VarianStar 4.51.

**Результаты и обсуждение.** Разработанная методика количественного определения хлорина е6 в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием жидкостной экстракции имеет предел количественного определения - 152 нг/мл (Рис.1.).

Время удерживания хлорина е6 в условиях анализа составляет около 6 минут. Степень извлечения исследуемого вещества составляет в среднем 78 % для диапазона концентраций от 0,152 до 15,2 мкг/мл. В этом диапазоне концентраций методика имеет линейную зависимость и описывается уравнением  $y = 0,39374x - 0,01913$ . Коэффициент корреляции  $R^2 = 0,9999$ .

С помощью разработанной методики уже были проведены исследования по изучению фармакокинетики фотосенсибилизатора Фотолон при различных способах введения в организм.

**Выводы.**

Был разработан, апробирован и валидирован метод количественного определения хлорина е6 в плазме крови методом высокоэффективной хроматографии с использованием жидкостной экстракции. Разработанная методика была использована в исследованиях по изучению фармакокинетики фотосенсибилизатора Фотолон при различных способах введения в организм.

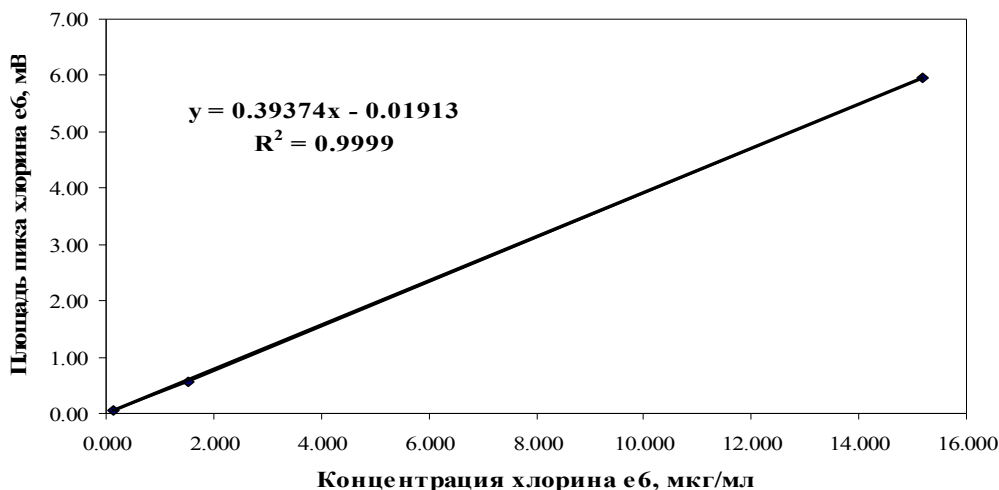


Рис. 2. Калибровочный график (зависимость концентрации, мкг/мл, от интенсивности, мВ).

### Литература:

1. HPLC study of chlorin e6 and its molecular complex with polyvinylpyrrolidone / H.A. Isakau [et al.] // J. Biomed. Chromatogr. - 2007. - Vol. 21, N 3. - P. 318-325
2. Iskau, H.A. Isolation and identification of impurities in chlorin e6 / H.A. Iskau, T.V.Trukhacheva, P.T. Petrov // J.

Pharm. Biomed. Analys. - 2007. - Vol. 45. - P. 20-29.

3. Toward understanding the high PDT efficacy of chlorin e6 -polyvinylpyrrolidone formulations: Photophysical and molecular aspects of photosensitizer-polymer interaction in vitro / H.A. Isakau [et al.] // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. - 2008 - Vol. 92. - P. 165-174.

## КИНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД ПРИ РАЗРАБОТКЕ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОФЕИНА

Хейдоров В.П., Чалый Г.Ю.

УО "Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет"

**Введение.** В предыдущих исследованиях [1-2] установлено, что скорость окисления ряда азотсодержащих соединений, которые являются биологически активными веществами, имеет существенные различия. Это обусловлено природой веществ, химическим составом, структурными особенностями соединений, а также физико-химическими условиями протекания реакций. Варьируя условия протекания реакций можно направлять их и, в одних случаях ускорять их, в других замедлять. Представляет научный интерес и практическую целесообразность изучить кинетические закономерности протекания таких реакций и использовать их для разработки методик определения лекарственных веществ на основе кинетических закономерностей.

**Цель.** Изучить кинетику окисления кофеина и оптимальные условия протекания реакций. На основе полученных результатов разработать методику определения кофеина.

**Материал и методы.** В работе использовали реактивы квалификации "хч". Растворы готовили на очищенной воде. Кофеин (99%) использовали фирмы "Sigma". Опыты проводили при термостатировании исследуемых растворов в интервале температур 0-25°C. За кинетикой следили спектрофотометрически.

**Результаты и обсуждение.** Проведены экспериментальные кинетические исследования закономерностей

протекания реакции окислительного превращения кофеина. Установлен кинетический закон скорости, определены кинетические и активационные параметры. Исследовано влияние на скорость процесса окисления следующих физико-химических факторов: рН среды, концентрации субстратов, концентрации реагентов, температуры, времени взаимодействия.

В ходе эксперимента определены наиболее значимые факторы для определения кофеина в лекарственных формах и смесях, изучено влияние сопутствующих компонентов на выход продукта окисления кофеина. Установлены оптимальные условия для определения кофеина и разработана методика его количественного определения в лекарственных формах и смесях в присутствии сопутствующих компонентов, веществ, близких по структуре и свойствам, без предварительного разделения.

Для наглядности приведены результаты определения кофеина в присутствии теофиллина (табл.1). Теофиллин - структурный аналог кофеина и очень мало отличается от кофеина - метильным радикалом (-CH<sub>3</sub>) в положении N7, но кинетика протекания их реакций сильно различается. Это явилось основой для разработки методики определения кофеина в присутствии теофиллина в лекарственных формах без их предварительного разделения.

Разработанная методика была апробирована при

Таблица 1- Метрологическая оценка количественного определения кофеина в присутствии теофиллина

Взято кофеина, мкг/10мл	Добавлено теофиллина, мкг/10мл	Найдено кофеина, мкг/10мл	Метрологические характеристики				
			$\bar{X}$	S <sup>2</sup>	S	S $\bar{x}$	$\bar{\epsilon}_{0,95}$
80	40	80,87	80,01	1,6113	1,2694	0,5182	1,66
-«-	-«-	79,23					
-«-	80	78,91					
-«-	-«-	81,08					
-«-	120	81,45					
-«-	-«-	78,50					

Примечание.  $\bar{X}$  - средний результат определения;  
S<sup>2</sup> - дисперсия (сходимость);  
S - стандартное отклонение (воспроизводимость);  
S $\bar{x}$  - стандартное отклонение среднего результата определения;  
 $\bar{\epsilon}_{0,95}$  - точность определения.