

УДК 615.213:543.054

В. С. БОНДАРЬ¹, А. В. БАГУЛЯ²,*доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры токсикологической химии¹, аспирант кафедры токсикологической химии², Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина*

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ ИЗОЛИРОВАНИЯ ДИФЕНИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Одной из важнейших проблем неврологии на современном этапе остается лечение эпилепсии, относящейся к наиболее распространенным заболеваниям центральной нервной системы. Среди лекарственных препаратов для лечения судорог одним из наиболее эффективных является дифенин, использующийся как средство монотерапии, так и в комбинации с барбитуратами, бензодиазепинами, карбамазепином и другими препаратами [1-3].



АННОТАЦИЯ

Изучены возможности изолирования дифенина из биологического материала на модельных смесях с печенью методами, общепринятыми в судебно-токсикологическом анализе, а также путем экстракции хлороформом и ацетоном из высушенного биологического материала, и показано, что они позволяют выделить 50-70% препарата.

Ключевые слова: дифенин, экстракционно-фотометрическая методика, изолирование дифенина из тканей печени, биологический материал.

ВВЕДЕНИЕ

Широкое использование препарата обуславливает необходимость исследования его в химико-токсикологическом отношении [4-7], что требует разработки методик его изолирования из биологического материала. Исходя из физико-химических свойств дифенина (плохая растворимость в органических растворителях, су-

ществование двух таутомерных форм, низкое значение оптической плотности в различных растворителях и прочее), возникают значительные трудности в выделении его из биологических объектов [4-8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение сравнительной оценки методов изолирования дифенина из тканей печени общепринятыми методами – путем настаивания с полярными растворителями, а также с помощью экстракции органическими растворителями из высушенного биологического материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования методов изолирования дифенина готовили модельные смеси препарата с печенью, не претерпевшей гнилостных изменений. Для этого к 10 г измельченной печени добавляли 1 мл стандартного раствора дифенина (4 мг препарата), тщатель-

ным образом перемешивали и оставляли на сутки. Готовили также контрольную смесь печени с растворителем (0,1-процентный раствор натрия гидроксида), исследования которой проводили параллельно с основными.

Изолирование дифенина из тканей печени проводили модифицированными методами А. А. Васильевой, Стаса-Отто, В. Ф. Крамаренко [9], П. Валова [9, 10]. Модификация методов заключалась в уменьшении навесок печени до 10 г, соответствующем уменьшении объемов органических растворителей, замене стадий процеживания на центрифугирование и использовании для экстракции хлороформа вместо диэтилового эфира.

«Кислые» хлороформные извлечения собирали в мерные колбы емкостью 25,0 мл, доводили объем хлороформом до метки и получали извлечения 1 (по А. А. Васильевой), 2 (по В. Ф. Крамаренко), 3 (по Стасу-Отто) и 4 (по П. Валову).

Кроме того, выделение дифенина из тканей печени проводили путем комбинированной статической и динамической экстракции органическими растворителями из предварительно высушенного безводным натрия сульфатом биологического материала [11]. В качестве растворителей использовали хлороформ и ацетон, навеска печени составляла 10 г, хлороформные и ацетоновые извлечения собирали в мерные колбы емкостью 100 мл, доводили объемы соответствующими растворителями до метки и получали извлечения 5 и 6 соответственно.

К группе веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией, относятся соединения кислотного, нейтрального и основного характера, различные по своему химическому строению. Номенклатура их очень велика и постоянно расширяется по мере синтеза новых соединений.

Наибольшее токсикологическое значение в настоящее время среди прочих имеют барбитураты: барбитал, фенobarбитал, барбамил, этаминал-На, бутобарбитал, гексенал, бензонал, бензобамил, циклобарбитал и другие.

Количественное определение дифенина проводили с помощью УФ-спектрофотометрической методики в 10 мл извлечений 1-4 и в 40 мл извлечений 5-6, а также с помощью разработанных ранее экстракционно-фотометрической [12], ВЭЖХ-методики [13] и ГЖХ-методики [14] в 5 мл извлечений 1-4 и в 20 мл извлечений 5-6. Анализ методами ВЭЖХ и ГЖХ проводили в элюатах, полученных после предварительной ТСХ-очистки извлечений 1-6.

Методика ТСХ-очистки извлечений из биологического материала. Указанное количество хлороформных извлечений упаривали на водяной бане до сухого остатка, который растворяли в 0,5 мл 96-процентного этанола и количественно наносили на линию старта хроматографической пластины Sorbfil ПТСХ-IIВ полосой шириной 2 см. Пластину элюировали в системе растворителей этилацетат – метанол – 25-процентный раствор аммиака (85:10:5) в присутствии «свидетеля». С целью очистки от соэкстрактивных веществ пластину предварительно элюировали в хлороформе один раз или, при необходимости, дважды. После высушивания пластины проявляли полосу «свидетеля» реактивом Драгендорфа и наблюдали пятно коричневого цвета с $R_f=0,41$. С помощью скальпеля напротив пятна «свидетеля» с пластины тщательным образом снимали сорбент с площади 3 см×1 см в стеклянный флакон. Во флакон добавляли 10 мл 0,001 моль/л раствора калия гидроксида в метаноле и встряхивали в течение 5 мин., затем фильтровали в мерную колбу емкостью 10 мл и доводили объем раствора через фильтр («Красная лента») растворителем до метки (элюат).

Количественное определение дифенина в полученных извлечениях с помощью УФ-спектрофотометрической методики. Указанное количество хлороформных извлечений упаривали на водяной бане до полного удаления органического слоя. Сухие остатки растворяли в 10,00 мл 96-процентного этанола. После тщательного перемешивания измеряли оптическую плотность полученных растворов при длине волны 258 нм [8] на спектрофотометре СФ-46 в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве компенсационного раствора использовали 96-процентный этанол.

Количественное определение дифенина в полученных извлечениях с помощью экстракционно-фотометрической методики. Указанное количество хлороформных извлечений упаривали на водяной бане до полного удаления органического слоя. Сухие остатки растворяли в 10 мл 0,1-процентного раствора натрия гидроксида. Далее поступали так же, как указано в [12], используя 5 мл полученных растворов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты количественного определения дифенина в извлечениях из биологического материала приведены в таблице.

Таким образом, дифенин можно изолировать из биологического материала, используя любую из исследованных методик.

Принятые в судебно-токсикологическом анализе общие методы изолирования (А. А. Васильевой, В. Ф. Крамаренко и Стаса-Отто) позволяют выделить до-

Таблица – Результаты изолирования дифенина из биологического материала (модельные смеси с печенью) (n = 3, P = 95%)

Метод изолирования	Выделено дифенина, %			
	А*	Б	В	Г
По А. А. Васильевой (извлечение 1)	59,01±4,97	59,47±8,45	59,31±4,59	60,31±3,03
По В. Ф. Крамаренко (извлечение 2)	57,06±6,12	57,69±6,27	55,94±3,56	55,74±3,41
По Стасу-Отто (извлечение 3)	50,65±4,96	50,53±4,58	50,62±2,51	50,29±3,23
По П. Валу (извлечение 4)	73,69±4,97	73,02±4,24	73,72±3,21	73,79±3,43
Изолирование хлороформом (извлечение 5)	71,07±5,03	70,95±4,52	70,71±3,21	70,69±2,99
Изолирование ацетоном (извлечение 6)	75,44±6,04	74,09±4,69	74,82±3,37	75,29±3,49

*Метод количественного определения: А – УФ-спектрофотометрический; Б – экстракционно-фотометрический; В – метод ВЭЖХ после ТСХ-очистки; Г – метод ГЖХ после ТСХ-очистки

статочное большое количество дифенина из биологического материала (50-60%), что позволяет не «пропустить» препарат в ходе выполнения ненаправленного анализа как при работе со свежим, так и гниющим биологическим материалом.

Дифенин обладает избирательным противоэпилептическим действием. Способствует активному выведению из нейронов мозга ионов Na^+ и снижает их возбудимость, а также повышает в мозге содержание ГАМК. Хорошо всасывается из пищеварительного канала, трансформируется в печени, в виде метаболитов выделяется почками из организма. Побочные действия: головокружение, тремор, нистагм, диплопия, гиперпластический гингивит, тошнота, рвота, аллергические реакции.

Частный метод изолирования, используемый при работе с барбитуратами, является весьма эффективным и при работе с дифенином: степень извлечения достигает 73-74%.

Методики изолирования дифенина хлороформом и ацетоном из высушенного биологического материала наиболее быстрые и удобные в исполнении, они позволяют выделить 70-75% препарата, но при этом следует отметить, что соответствующие извлечения 5 и 6 сильно загрязнены соэкстрактивными веществами: поглощение в контрольных опытах достигает 30% от поглощения в соответствующих основных опытах.

ВЫВОДЫ

Таким образом, нами изучены возможности изолирования дифенина из биологического материала на модельных смесях с печенью общепринятыми в судебно-токсикологическом анализе методами А. А. Васильевой, В. Ф. Крамаренко, Стаса-Отто и П. Валу, а также путем экстракции хлороформом и ацетоном из высушенного биологического материала, и показано, что они позволяют выделить 50-70% препарата, что дает возможность обнаружить дифенин в ходе ненаправленного анализа и выполнить направленное исследование на препарат.

ТҮЙІН

В. С. БОНДАРЬ¹, А. В. БАГУЛЯ²,
фармацевтика ғылымдарының докторы,
профессор, токсикологиялық химия кафедрасының
профессоры¹, токсикологиялық химия кафедрасының
аспиранты², Ұлттық фармацевтикалық
университет, Харьков қаласы, Украина

БИОЛОГИЯЛЫҚ МАТЕРИАЛДАН ДИФЕНИНДІ ОҚШАУЛАУ ӘДІСІН САЛЫСТЫРМАЛЫ БАҒАЛАУ

Мақалада модельді қоспадағы бауырдың биологиялық материалынан дифенинді сот-токсикологиядағы жалпыға ортақ талдау әдістерімен оқшаулау мүмкіндіктері зерделеніп, сондай-ақ кептірілген биологиялық материалдан хлороформ мен ацетон экстракцияланды. Зерттеу нәтижесі препараттың 50-70% оқшаулау мүмкіндігін көрсетті.

Кілт сөздер: дифенин, экстракциялық-фотометриялық әдіс, дифенинді бауыр тінінен оқшаулау, биологиялық материал.

SUMMARY

V.S. BONDAR¹, O.V. BAGULYA²,
doctor of pharmacy, professor, professor of the
department toxicological chemistry¹, graduate student
of the department toxicological chemistry²,
National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

COMPARATIVE ESTIMATION OF PHENYTOIN ISOLATION METHODS FROM BIOLOGICAL MATERIAL

The possibilities of phenytoin isolation from biological material using model mixtures with liver by the methods generally accepted in forensic and toxicological analysis, and also by extraction with chloroform and acetone from the exsiccated biological material have been studied and it is showed that they allow to isolate 50-70% of medicine.

Keywords: Difenin, extraction-photometric method, difenina isolation from the tissues of the liver, biological material.

Литература:

- 1 Clinical uses of anticonvulsant drugs other than for epilepsy // J. Psycho-soc. Nurs. Ment. Health Serv. – 2013. – V. 51 (9), – P. 11-12.
- 2 M. Mizobuchi. Current management of epilepsy / M. Mizobuchi // Brain Nerve. – 2013. – V. 65 (9), – P. 1031-1040.
- 3 L. Jehi. Medication management after epilepsy surgery: opinions versus facts / L. Jehi // Epilepsy Curr. – 2013. – V. 13 (4), – P. 166-168.
- 4 J.I. Morrow, P.A. Routledge. Poisoning by anticonvulsants // Adverse Drug React. Acute Poison. Rev. – 1989. – V. 8 (2), – P. 97-109.
- 5 S. Craig. Phenytoin poisoning / S. Craig // Neurocrit. Care. – 2005. – V. 3 (2), – P. 161-170.
- 6 J.M. Murphy, R. Motiwala, O. Devinsky. Phenytoin intoxication // South Med. J. – 1991. – V. 84 (10), – P. 1199-1204.
- 7 Phenytoin toxicity: a review of 94 cases / P. L. Curtis, R. Piibe, M. J. Ellenhorn, J. Wasserberger, G. Ordog // Vet. Hum. Toxicol. – 1989. – V. 31 (2), – P. 164-165.
- 8 Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4th ed. / Edited by A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop. – London: The Pharm. Press, 2011. – 2609 p.
- 9 Крамаренко, В.Ф. Токсикологическая химия / В.Ф. Крамаренко. – К.: Вища школа, 1989. – 429 с.
- 10 P. Valov. Rapid qualitative and quantitative determination of barbiturates from postmortem specimens / P. Valov // Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition. – 1946. – V. 18, №7. – P. 456-457.
- 11 Болотов В.В., Клименко Л.Ю. Вивчення методів ізолювання зопіклону з об'єктів біологічного походження // Вісн. фармації. – 2006. – №3 (47). – С. 26-30.
- 12 Бондар В.С., Багуля О.В., Нефьодов І.О. Екстракційно-фотометричне визначення дифеніну // Біофармацевт. журн. – 2013. – Т. 6, №3. – С. 43-45.
- 13 Бондар В.С., Багуля О.В. Застосування високоефективної рідинної хроматографії в аналізі дифеніну // Укр. мед. альм. – 2012. – Т. 15, №5 (додаток). – С. 96-98.
- 14 Бондар В.С., Багуля О.В., Байдак О.В. Розробка умов визначення дифеніну методом газо-рідинної хроматографії, придатних для цілей хіміко-токсикологічного аналізу // Укр. мед. альм. – 2013. – Т. 16, №1. – С. 53-54.

БЕЗОПАСНОСТЬ ЛЕКАРСТВ

Прием антидепрессантов может привести к развитию сахарного диабета

Ученые из университета Саутгемптона предполагают, что применение антидепрессантов может повышать риск развития сахарного диабета 2-го типа. Они изучили результаты более двадцати различных медицинских исследований и обнаружили наличие связи между приемом этой группы препаратов и развитием сахарного диабета у пациентов.

По мнению ученых, причиной развития нарушений регуляции уровня глюкозы в крови могут быть как психотропные препараты, так и лишний вес у пациентов с депрессией, принимающих их. Поэтому требуется провести дополнительные исследования для выяснения факторов, лежащих в основе обнаруженной связи. Как отметил ведущий автор работы, профессор Ричард ХОЛТ, не исключено, что некоторые случаи развития сахарного диабета у пациентов с депрессией, принимающих антидепрессанты, являются совпадением, но также существует и вероятность того, что именно применение лекарственных средств способствует развитию диабета. Хотя полученные данные не являются прямым доказательством того, что антидепрессанты приводят к нарушениям регуляции уровня глюкозы в организме, лечащие врачи могут принимать во внимание возможную взаимосвязь. Перед назначением лечения пациентам, страдающим депрессией, необходимо проводить анализ крови с целью определения уровня сахара в крови. Для предотвращения развития сахарного диабета врач может рекомендовать соблюдение диеты и выполнение физических упражнений, что также будет полезным и для психического здоровья.

hospitalpharmacy.ru

Применение монтелукаста у детей 2-14 лет

Безопасность и эффективность монтелукаста (Сингуляр) у детей с бронхиальной астмой от 6 до 14 лет достаточно изучены в контролируемых клинических исследованиях. Профили безопасности и эффективности схожи у этой группы пациентов и у взрослых. На основе проведенных контролируемых клинических исследований у детей 6 лет и старше с бронхиальной астмой сделано заключение о безопасности жевательных таблеток монтелукаста в дозе 4 мг у детей от 2 до 5 лет с бронхиальной астмой. Основанием для экстраполяции послужили данные, свидетельствующие о сходстве фармакокинетики монтелукаста у этих групп пациентов. При этом также принималось во внимание, что патофизиологические механизмы, течение заболевания, реакция на лекарственную терапию по существу схожи у группы детей 2-5 лет и у пациентов от 6 лет и старше.

rxlist.com

