

ВИЗНАЧЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ СУМІСНОСТІ СКЛАДОВИХ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТУ ТімТіл™

А. В. Березовський¹, А. В. Лисиця², В. В. Сенча¹

¹Науково-виробнича фірма «Бровафарма»

²Інститут епізоотології НААН України

У статті наведено дані щодо обґрунтування складу нового комплексного препарату ТімТіл™ на основі результатів проведених мас-спектрометричних досліджень. У ході них з'ясовано, що всі біологічно активні речовини збереглися в незмінному стані, а утворення нових продуктів (розкладу, окиснення, нейтралізації тощо) тривалий час не спостерігалось. Це дає підставу стверджувати, що взяті авторами діючі компоненти є хімічно (фармацевтично) сумісними і можуть використовуватися в складі нового комплексного препарату з урахуванням прогнозованої фармакологічної доцільності.

Останніми роками в тваринництві, особливо в свинарстві, все частішають свідчення виникнення асоційованих інфекцій, що обумовлені цілою групою збудників різних видів. У таких випадках клінічні прояви захворювання нетипові й визначаються характером міжвидової взаємодії збудників, котрі спричиняють пригнічення або стимуляцію одного виду мікроорганізму іншим. Захворювання, викликані змішаною мікрофлорою, протікають клінічно тяжче, мають більш триваліший перебіг, часто рецидивують і на фоні їх – нерідко виникають різні ускладнення. Тому в схемах лікування тактично повинен мінятися принцип вибору антимікробних засобів [1]. При цьому фахівці все частіше користуються комбінацією кількох антибіотиків або застосовують комплексні засоби, які спроможні впливати на весь спектр наявних патогенних мікроорганізмів. Особливо це надто важливе в тих випадках, коли ідентифікація збудників та визначення їх чутливості до наявних засобів – утруднена, а також для остороги розвитку резистентності у мікроорганізмів [2, 3]. Виходячи з цього, останнім часом, зарубіжні та вітчизняні фармацевтичні компанії стали створювати комбіновані препарати з поєднанням декількох антибіотиків або інших антибактеріальних засобів [1, 3, 4]. Враховуючи необхідність проводити ротацію препаратів в технології промислового виробництва тваринницької продукції, нами розроблено комплексний препарат ТімТіл™ у формі стерильного розчину для ін'єкцій [5].

Матеріали і методи. Дослідження та моніторинг стану активно діючих інгредієнтів у експериментальному препараті ТімТіл™ (лікарська форма – розчин) на предмет їх фармацевтичної сумісності проведено в лабораторії диференційної діагностики ІЕ НААН України протягом квітня-липня 2010 р. Досліди проводили на мас-спектрометрі біохімічному МСБХ-01 з іонізацією зразка уламками ділення ядер ²⁵²Cf (АТ "SELMI", м. Суми, Україна). При пробопідготовці використовували спеціальний пристрій УНП-2 (АТ "SELMI", м. Суми, Україна). Підготовка зразків до мас-спектрометричних досліджень і самі експерименти проводилися за випробуваними методиками спеціально валідованими для методу часопротітної плазмово-десорбційної мас-спектрометрії (далі – метод ПДМС) [6] та подальше не одноразово перевіреного в ідентичних експериментах [7, 8].

Однією з основних переваг цього методу є те, що він дозволяє отримати молекулярні та квазімолекулярні іони (далі – КМІ) речовин, а не суміш „уламків молекул”, як більшість інших методів іонізації. Тобто, відбувається „м'яка” іонізація зразка, значна кількість молекул органічних речовин зберігає цілісною свою структуру. Це дозволяє напряму, а не опосередковано, визначати стан молекул біологічно активних речовин (далі – БАР) в

природних та штучних субстратах і субстанціях різного походження, в т.ч. і в комплексних лікувально-профілактичних препаратах для ветеринарної медицини.

Об'єкти досліджень розчиняли в системі етанол-вода (1:1), або в композиціях різних органічних та неорганічних розчинників, що залежно від фізико-хімічних властивостей речовин, котру аналізували. Мас-спектри препаратів, окремих БАР та їх сумішей знімали в день розведення, а також після витримки в розчині при кімнатній температурі в темному місці на 25, 50 та 75-ту дібу. В процесі цих досліджень використовували прискорюючи напруги роботи МСБХ-01 +10 кВ або -10 кВ, тобто, знімали мас-спектри як позитивних, так і негативних іонів. Більшість БАР утворює при іонізації значну кількість позитивно заряджених іонів, тому, зазвичай, спектри в „+” іонах є більш інформативними. Об'єм накопичуваних даних подій розпаду ^{252}Cf (стартів) варіював в межах від 3 000 до 12 000, ширина каналу детектування становила 1 нс/канал, було використано також режим нівелювання 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 відкладено m/z , тобто, відношення маси іону (m) до його заряду (z), для однозарядних іонів – це фактично їх маса; а по вісі ординат – кількість накопичених іонів (інтенсивність піків).

Результати та обговорення. До складу експериментального препарату в якості основних БАР входять два антибіотика з різним механізмом впливу на мікроорганізми, а саме: тілозину тартрат та тіамулін гідроген фумарат. В ході експерименту по зняттю мас-спектрів активно діючих інгредієнтів експериментального препарату з'ясовано, що на мас-спектрі чистої субстанції тілозину ($M = 916$ а.о.м.), який було знято відразу після розчинення зразка в суміші етанол-вода (1:1), в „+” іонах m/z 917,0 належала квазімолекулярному іону (далі КМІ) $[\text{M}+\text{H}]^+$ тілозину, пік іону m/z 906,5 також є типово характерним для даної сполуки (рис. 1). Мас-спектри в „-” іонах виявилися малоінформативними, характерні іони на них переважно відсутні, тому в подальшому посилання на ці спектри не наводяться.

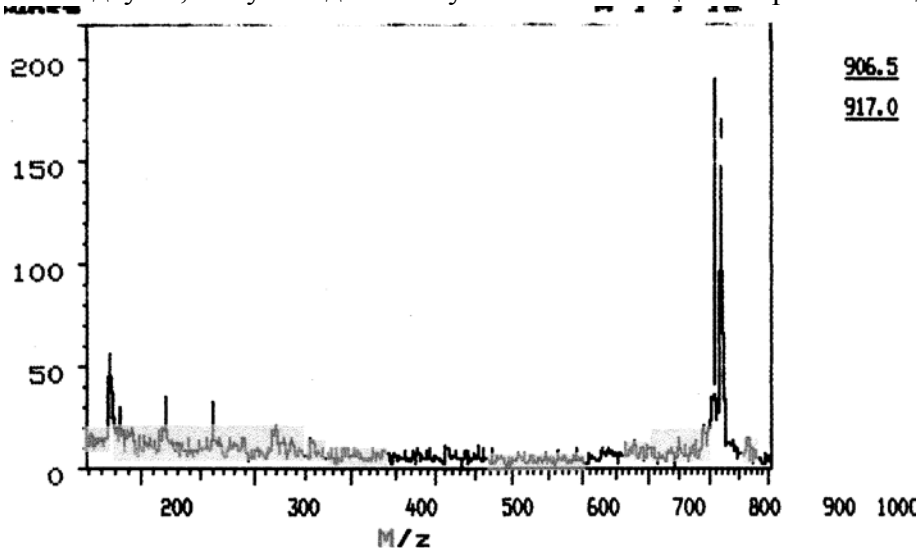


Рис. 1. Мас-спектрограма тілозину тартрату свіже розведеного в „+” іонах

На мас-спектрі тілозину, який було знято через 25, 50 та 75 діб після його розчинення також наявні характерні піки цієї сполуки, m/z 917,1 та 917,5 належить КМІ $[\text{M}+\text{H}]^+$ тілозину (рис. 2).

На мас-спектрі чистої субстанції тіамуліну ($M = 609,8$ а.о.м.), який було знято відразу після розчинення зразка в суміші етанол-вода (1:1), в „+” іонах визначено його характерний іон m/z 493,9 (рис. 3).

На мас-спектрах тіамуліну знятих через 25, 50 та 75* діб після розчинення також наявний характерний пік цієї сполуки m/z 494,1 (рис. 4).

* - враховуючи ідентичність мас-спектрограм, тут і даліше їх показники на 25 та 50-ту добу не наводимо

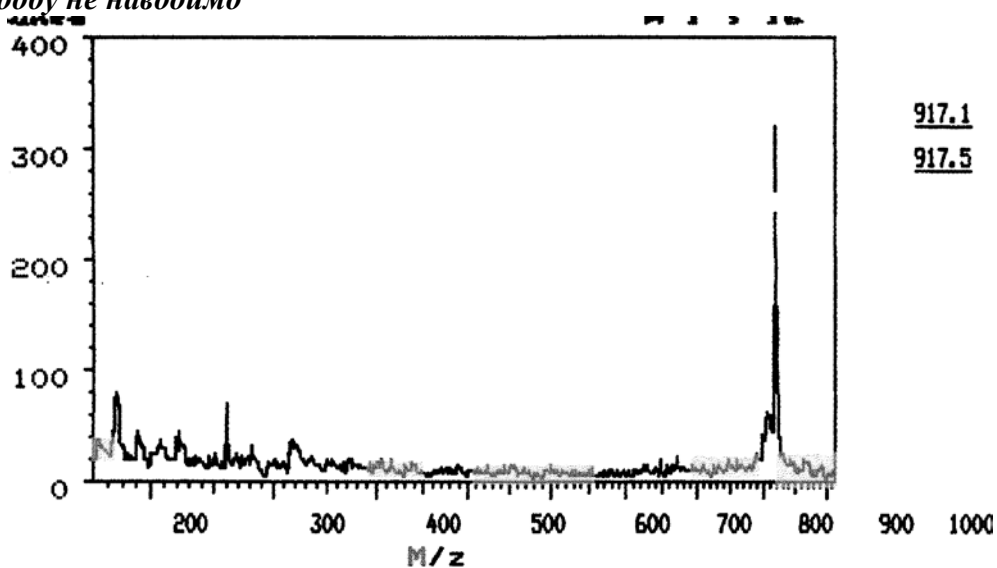


Рис. 2. Мас-спектрограма тілозину тартрату через 75 діб після розведення в „+” іонах

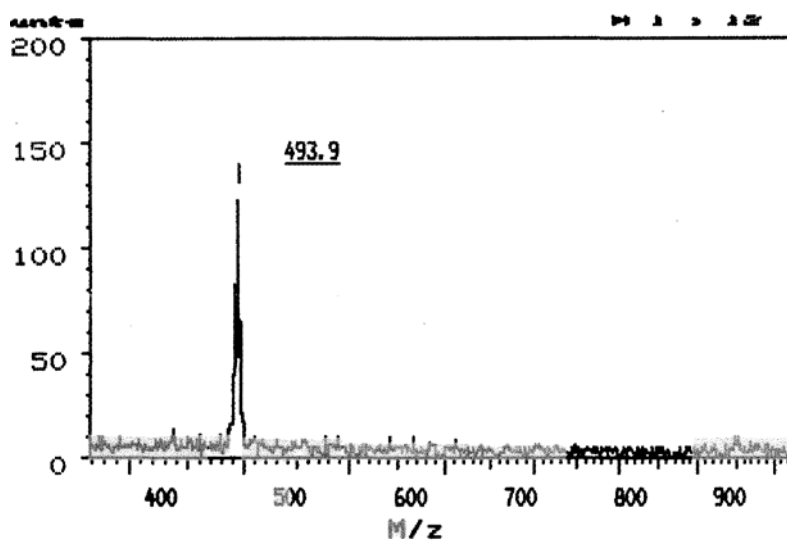


Рис. 3. Мас-спектрограма тиамулін гідроген фумарату свіже розведеного в „+” іонах

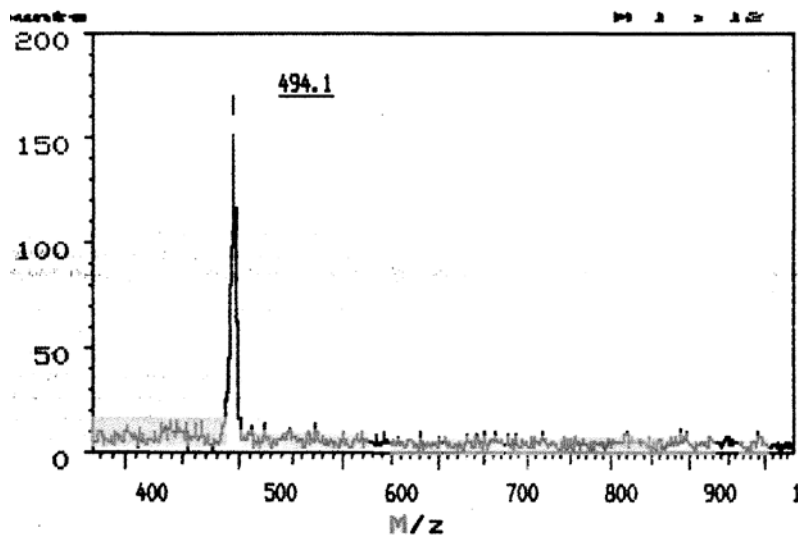


Рис. 4. Мас-спектрограма тіамулін гідроген фумарату через 75 діб після розведення в „+” іонах

На мас-спектрі модельної суміші основних інгредієнтів ТімТілу™ (тіамуліну + тілозину), що були взяті в еквімолярних кількостях та розчинені безпосередньо перед проведенням дослідження, в „+” іонах, m/z 494,2 належить тіамуліну, а m/z 908,3 та 917,0 – КМІ $[M+H]^+$ тілозину (рис. 5).

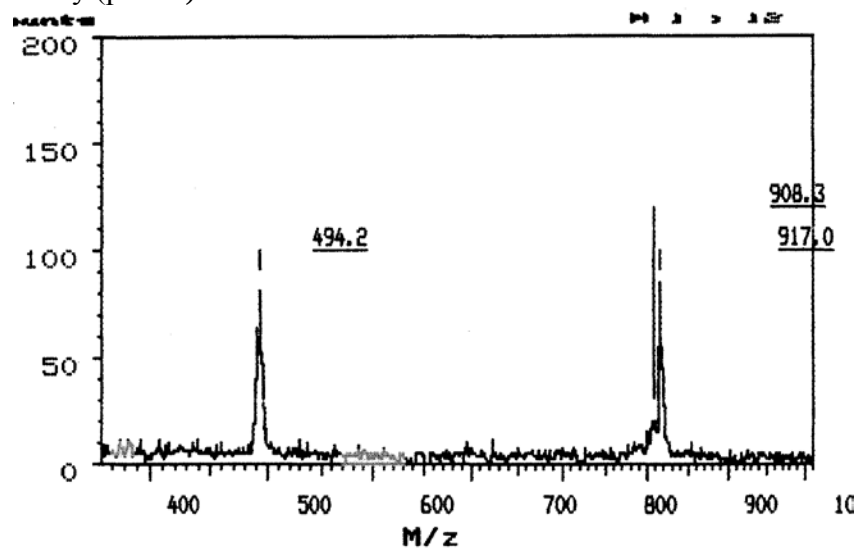


Рис. 5. Мас-спектрограма модельної суміші тілозину тартрату і тіамулін гідроген фумарату свіже розведених в „+” іонах

На мас-спектрах цієї ж модельної суміші знятої через 75 діб після розчинення також наявні характерні піки тіамуліну (m/z 494,8) та тілозину (m/z 905,0 та 917,5) (рис. 6).

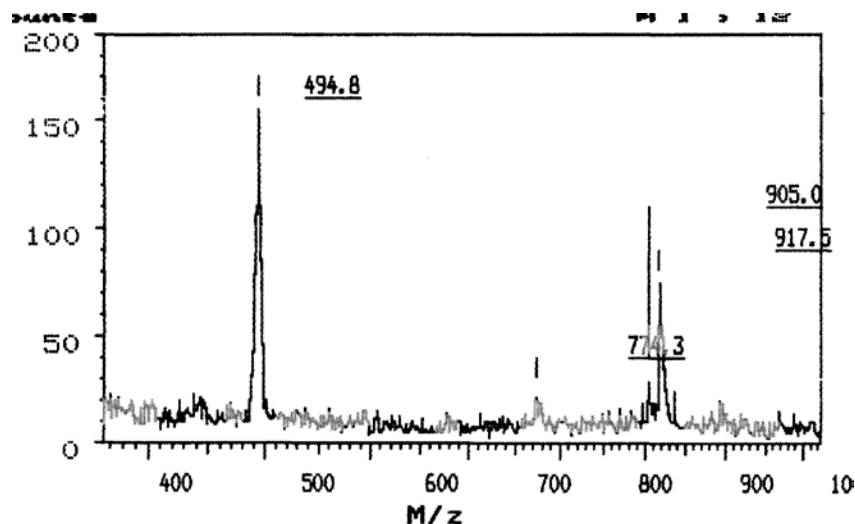


Рис. 6. Мас-спектрограма модельної суміші тілозину тартрату і тіамулін гідроген фумарату через 75 діб після розведення в „+” іонах

На мас-спектрі власне самого препарату ТімТіл[™], який було розчинено в суміші етанол-вода (1:1), відразу після розчинення зразка визначаються m/z 494,4 – тіамулін та m/z 905,6 і 917,0 – тілозин (рис. 7).

На мас-спектрах розведеного ТімТілу[™] через 75 діб після його розчинення також присутні характерні піки тіамуліну (m/z 494,3) та тілозину (m/z 905,6 і 917,3) (рис. 8).

На мас-спектрі не розведеного препарату ТімТіл[™] (експериментальна партія виготовлена 10.03.2010 р), при першому дослідженні через 45 діб після його виготовлення, було визначено також обидва основні інгредієнти: це піки з максимальною інтенсивністю m/z 494,3 – тіамулін і m/z 903,6 та 917,4 – КМІ $[M+H]^+$ тілозину. При цьому присутні також декілька інших піків, що належать складовим розчинника (рис. 9).

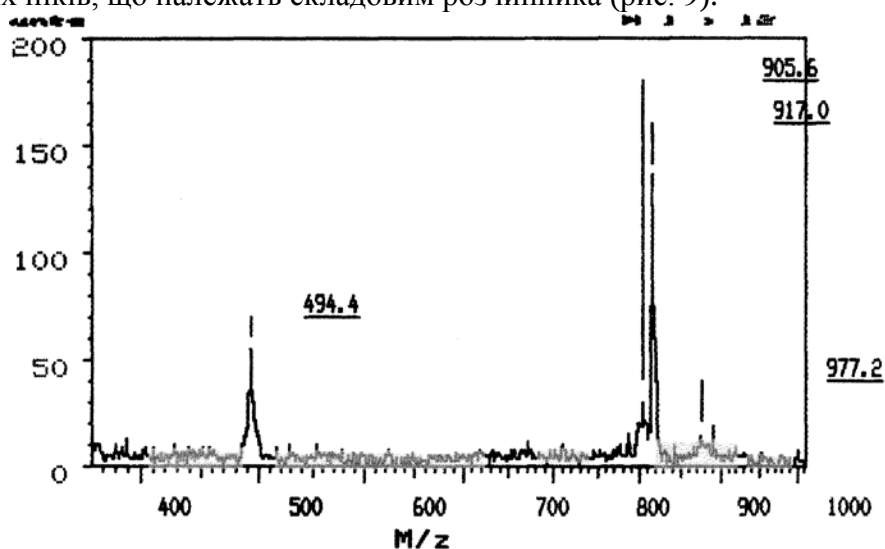


Рис. 7. Мас-спектрограма препарату ТімТіл[™] свіже розчинено в суміші етанол-вода (1:1), в „+” іонах

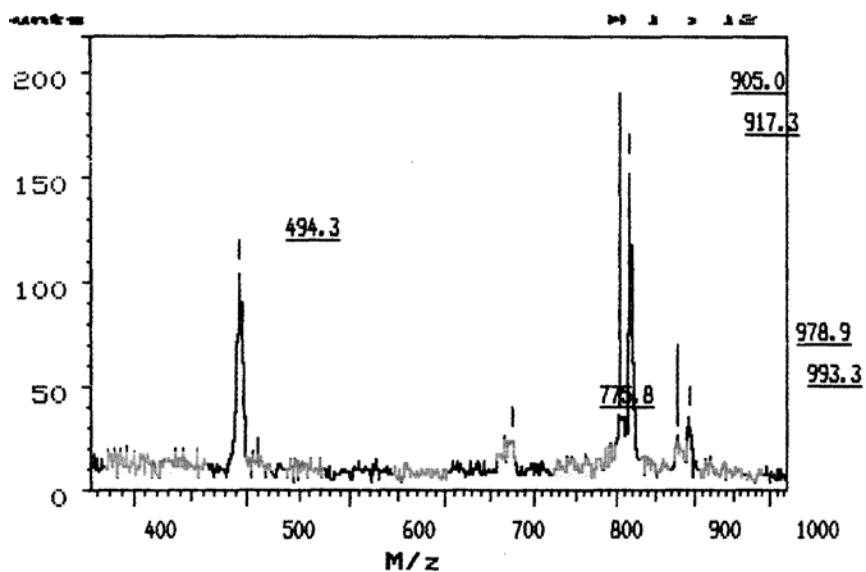


Рис. 8. Мас-спектрограма препарату ТімТіл™ через 75 діб після розведення в „+” іонах

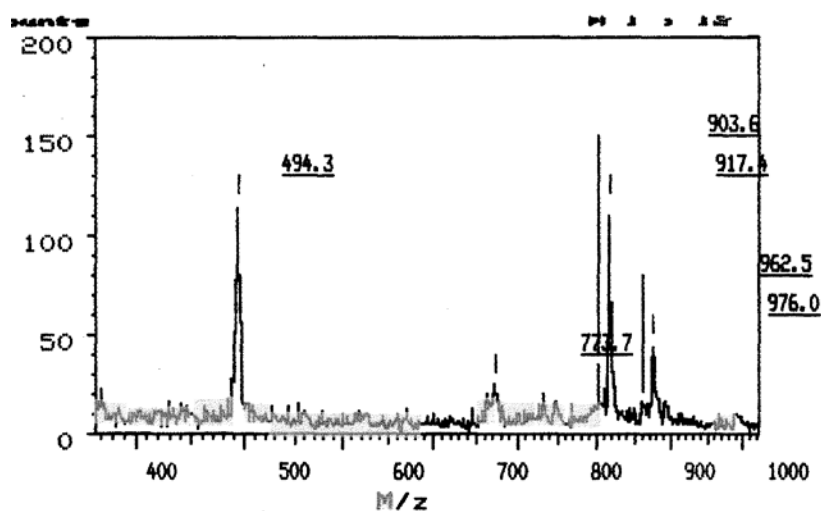


Рис. 9. Мас-спектрограма препарату ТімТіл™ через 45 діб після виготовлення в „+” іонах

На мас-спектрі не розведеного препарату ТімТіл™ при дослідженні через 120 діб (чотири місяці) після його виготовлення, без суттєвих змін визначались також обидва основні інгредієнти: це піки з максимальною інтенсивністю m/z 494,0 – тіамулін і m/z 906,3 та 917,0 – КМІ $[M+H]^+$ тілозину (рис. 10).

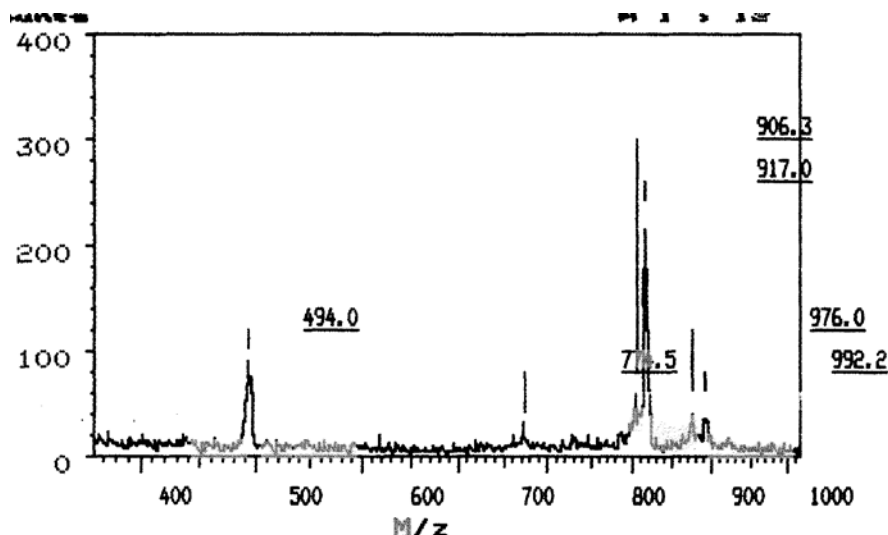


Рис. 10. Мас-спектрограма препарату ТімТіл™ через 120 діб після виготовлення в „+” іонах

В И С Н О В К И

1. Мас-спектри основних інгредієнтів препарату: тілозину тартрату (рис. 1, 2) і тіауліну гідроген фумарату (рис. 3, 4), свідчать, що названі сполуки протягом тривалого часу перебування в розчиненому стані (2,5 місяців) суттєво не змінюються, тобто, кожна речовина окремо є відносно стійкою в розчині.

2. Моніторинг протягом 75 діб модельної суміші ТімТілу™, що містила розчинені тіаулін і тілозин показав, що ці сполуки практично не змінюються, так як на спектрах наявні всі їх типові піки (рис. 5, 6). Аналогічне спостереження складових розведеного та не розведеного препарату ТімТіл™, за такий же термін, свідчило, що суттєвих змін з його основними інгредієнтами (тілозин і тіаулін), як в розведеному стані (рис. 7, 8) так і в оригіналі препарату за 120 діб (рис. 9, 10) також не відбувалось.

3. Таким чином, основні інгредієнти препарату ТімТіл™ в рідкому агрегатному стані (розчин) є фармацевтичне сумісними і можуть використовуватися в одному комплексному препараті.

Перспектива подальших досліджень. Планується проведення досліджень по з'ясуванню ефективності препарату в виробничих умовах.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ СОСТАВНЫХ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ТимТил™

А.В. Березовский¹, А.В. Лисица², В.В. Сенча¹

¹Научно-производственная фирма «Бровафарма»

²Институт эпизоотологии НААН Украины

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье наведено данные относительно обоснования состава нового комплексного препарата ТимТил™ на основании результатов проведенных мас-спектрометрических исследований. В процессе их установлено, что все биологически активные ингредиенты сохранились в неизменном состоянии, а образование новых продуктов (распада, окисления,

нейтрализации и т.п.) продолжительное время не наблюдалось. Это дает основание утверждать о том, что взятые авторами активные компоненты являются химически (фармацевтически) совместимы и могут использоваться в составе нового комплексного препарата с учетом его прогнозированной фармакологической целесообразности.

DETERMINATION OF PHARMACEUTICAL COMPATIBILITY OF INGREDIENTS OF THE NEW COMPLEX PREPARATION TimTil™

A.V. Berezovsky¹, A.V.Lisitsa², B.B. Sencha¹

¹ Scientific and Production firm "Brovafarma"

² Institute Epizootology NAAS of Ukraine

S U M M A R Y

The article presents data about the substantiation of the content of a new complex preparation TimTil™ on the basis of the results of conducted mass spectrometric studies. The process sets that all the biologically active ingredients are preserved in an unaltered state, and the formation of new products (decomposition, oxidation, neutralization, etc.) for a long time was not observed. This gives the grounds to assert that the active ingredients combined by the authors are chemically (pharmaceutical) compatible and can be used as part of a new integrated product in view of predicted its pharmacological effectiveness.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Гречухин А.Н.* Современный подход к терапии при ассоциированных инфекциях / А.Н. Гречухин, Т.Б. Юхова // Ветеринария, 2009. - №9. – С. 8-10.
2. *Гоби Л.* Комбинирование антибиотиков // Животноводство России, 2009. - №12. – С. 32-33.
3. *Гавриков А.В.* Супримицин – синергидное действие трех компонентов // А.В.Гавриков, В.В. Воронкова // Ветеринария, 2010. - №3. – С. 11-14.
4. *Образжей А.Ф.* Порівняльне вивчення антибактеріальної активності комбінованого препарату «Флоксацил С» / А.Ф. Образжей, В.П. Сапейко, О.А. Тарасов // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2009. – Вип.10, №3. – С. 358-362.
5. Препарат ветеринарный ТімТіл. Технічні умови. ТУ У 24.4-14332579-053:2010. – 28 с. / Березовський А.В., Сенча В.В. Улько Л.Г.
6. 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.
7. *Мандигра М.С.* Метод мас-спектрометрії як один із підходів до розробки і випробування нових лікувально-профілактичних препаратів / М.С. Мандигра, А.В. Лисиця, І.М. Дмитрієв // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів. – 2005. – Вип. 6. – № 3. – С. 259-264.
8. *Березовський А.В.* Мас-спектрометрична оцінка рафензолу – нового комбінованого антигельмінтика / А.В. Березовський, А.М. Шевченко, А.В. Лисиця // Матер. III міжнар. конгр. спец. вет. медицини (4-7 жовтня 2005 р.) – Київ, 2005. – С. 82-85.

Рецензент – доктор ветеринарних наук, професор М.С. Мандигра, Інститут епізоотології НААН України.