УДК 615.322-453.6-451.1]-092.4
DOI: 10.15587/2313-8416.2016.65119

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК З ЕКСТРАКТОМ КОРИ ОСИКИ

© О. І. Онишків, Л. В. Вронська, Т. А. Грошовий

Мета. *Розробка методик стандартизації (ідентифікація і кількісне визначення) таблеток з екстрактом кори осики.*
Методи. *Об'єктом дослідження були таблетки на основі сухого екстракту кори осики по 0,05 г. Для ідентифікації сухого екстракту кори осики було використано метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Для ТШХ-досліджень використовували хроматографічні пластинки Silica Gel 60 F_{254} («Merck», Німеччина), хроматографічну камеру «CAMAG», прилад для нанесення проб Linomat 5 («CAMAG», Швейцарія), лампу для перегляду хроматограм в ультрафіолетовому світлі «CAMAG» і стандартні зразки фенолкарбонових кислот та флавоноїдів. Точні наважки стандартних зразків розчиняли у відповідних об'ємах метанолу. Для кількісного визначення фенолкарбонових кислот використовували метод спектрофотометрії із застосуванням спектрофотометра Cary-50. Перерахунок вмісту фенолкарбонових кислот здійснено на кислоту кофейну.*
Результати. *На підставі сучасних підходів щодо стандартизації лікарських засобів рослинного походження опрацьовано методики якісного та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) у таблетках екстракту кори осики. Ідентифікаційними критеріями якості екстракту кори осики у розроблених таблетках обрано наявність фенолкарбонових кислот і флавоноїдів (метод ТШХ). Теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено, що кількісним критерієм якості розроблених таблеток, виходячи із вмісту фенолкарбонових кислот в екстракті кори осики і вмісту екстракту у розроблених таблетках, та результатів аналізу таблеток слід обрати вміст фенолкарбонових кислот в межах від 2,7 до 3,3 мг, у перерахунку на середню масу таблетки і кислоту кофейну.*
Висновки. *Розроблено методики ідентифікації і кількісного визначення екстракту кори осики у таблетках на його основі, здійснено дослідження щодо вибору показників якості таблеток*
Ключові слова: *таблетки, виразкова хвороба, сухий екстракт кори осики, флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, стандартизація*

Aim. *Development of methods for standardization (identification and assay) of tablets with aspen bark extract.*
Methods. *Tablets containing dry extract of aspen bark, 0.05 g, were the object of research. For dry aspen bark extract identification a thin layer chromatography (TLC) method was used. Silica Gel 60 F254 («Merck», Germany) TLC plates, «CAMAG» TLC developing chamber, Linomat 5 («CAMAG», Switzerland) applicator, «CAMAG» UV-lamp to scan the chromatogram, and standard samples of hydroxycinnamic acids and flavonoids were used. Exact mass of standard samples were dissolved in appropriate volumes of methanol. To quantify hydroxycinnamic acids, spectroscopy method was used by Cary-50 Spectrometer. The hydroxycinnamic acids content calculated as caffeic was determined.*
Results. *On the basis of modern approaches to standardization of herbal medicines methods for qualitative and quantitative determination of active pharmaceutical ingredients of aspen bark extract in tablets were developed. The presence of phenolcarbonic acids and flavonoids (TLC method) were considered as identification criteria of aspen bark extract quality in developed tablets. Taking into account phenolcarbonic acids content in aspen bark extract and the extract content in developed tablets, as well as results of developed tablets analysis, it was theoretically proved and experimentally confirmed that phenolcarbonic acids content in the range from 2.7 to 3.3 mg calculated as the average tablet weight and caffeic acid should be chosen as quantitative criteria of developed tablets.*
Conclusion. *Methods for identification and quantitative determination of aspen bark extract in tablets were developed; study in area of the selection of tablets quality indicators was carried out*
Keywords: *tablets, peptic ulcer disease, aspen bark dry extract, flavonoids, phenolcarbonic acids, standardization*

1. Вступ

Виразкова хвороба є одним з найпоширеніших захворювань шлунково-кишкового тракту. Наявні статистичні дані свідчать про поширеність даної патології у світі, так зокрема у Японії – 11,2 %, у Швейцарії – до 7,5 %, на Середньому Сході – до 25 %, у США – до 10 % населення. Найчастіше виразкова хвороба виникає в 25–40-річному віці, проте може діагностуватися в будь-якій віковій категорії пацієнтів. Серед населення України захворювання органів травної системи займають третє місце (9,6 %) в загальній структурі поширеності хвороб внутрішніх органів, поступаючись лише хворобам системи кровообігу (30,63 %) та органів дихання (20,58 %). Також невпинно зростає в Україні і кількість хворих із запальними та виразковими ураженнями шлунково-кишкового тракту, зокрема у структурі поширеності хвороб органів травлення на виразку шлунка та дванадцятипалої кишки припадає 12,83 % [1, 2].

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок із важливими науковими чи практичними питаннями

Висока захворюваність, часті рецидиви, тривала непрацездатність хворих – все це дозволяє віднести проблему виразкової хвороби до найбільш актуальних у сучасній медицині. Чисельність факторів, що сприяють виникненню та розвитку даної патології потребує наявності широкого арсеналу противиразкових лікарських засобів. Незважаючи на достатню кількість сучасних високоефективних лікарських засобів синтетичного походження, не зменшується інтерес до рослинних препаратів. Асортимент зареєстрованих в Україні таблетованих противиразкових засобів на рослинній основі відносно невеликий і представлений лише таблетками «Альтан» (Борщагівський ХФЗ, Україна) та «Вентеро-нова» (Цісін Лтд, Китай) [3, 4]. Незаповненість цієї ніші вітчизняного ринку в повній мірі свідчить про необхідність оновлення асортименту вітчизняних таблетованих противиразкових фітопрепаратів, які б задовольнили потреби сучасної медицини та фармації. Все це стало підґрунтям для розробки нового таблетованого рослинного препарату з противиразковою дією на основі екстракту кори осики [5, 6].

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор

Дослідженню сухого екстракту кори осики присвячено ряд робіт вітчизняних науковців, які встановили наявність основних груп біологічно активних речовин (БАР) в екстракті та визначили їх кількісний вміст, запропонували оптимальний метод отримання екстракту шляхом вилучення гарячою водою з подальшим упарюванням і висушуванням, а також дослідили широкий спектр його активності. Зокрема, проведені на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету дослідження під керівництвом проф. Ковальова В. М. показали перспективність використання сухого екстракту кори осики в медичній практиці як антимікробного, репаративного, протизапального та анальгетичного засобу та доцільність розроблення на його основі лікарських засобів [7, 8]. Ґрунтовно виконані численні дослідження біологічної активності фенологлікозидів, фенолокислот і флавоноїдів виділених окремими фракціями із кори осики вказують на їх противиразкову активність. Фармакологічними експериментами показано, що екстракт кори осики як при профілактичному введенні тваринам з гострими виразками, так і у випадку лікування при виразковій хворобі хронічного типу має яскраво виражену гастропротекторну дію; крім того було виявлені антацидна, спазмолітична і знеболююча дії [9–11].

4. Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття

Важливим етапом комплексу досліджень зі створення нового лікарського засобу є розробка методик ідентифікації і кількісного визначення АФІ. У досліджуваних таблетках таким АФІ є екстракт кори осики, отриманий шляхом вилучення гарячою водою.

Фітохімічному і фармакологічному дослідженням відвару, настойки, рідкого і сухого екстрактів кори присвячено низку робіт [7–11]. В окремих роботах наведені результати фітохімічного дослідження деяких засобів, отриманих з кори осики. Так в екстрактах кори, отриманих за допомогою різних водно-спиртових сумішей, виявлено: серед фенологлікозидів – похідне тріандрину і тріандрин, саліцин, салікартин, віталін і популін; серед флавоноїдів – хризин, гіперозид, кверцетин і рутин; серед фенол окис-лот – *п*-кумарову, ферулову, кофейну, коричну і галову [9–11]. Проте питання розробки методик ідентифікації і кількісного визначення екстракту кори осики, отримуваного вилученням гарячою водою і напрацювання критеріїв якості його і засобів на його основі залишаються невирішеними.

5. Формулювання цілей статті (завдання) статті

Мета роботи – розробка методик стандартизації (ідентифікація і кількісне визначення) таблеток з екстрактом кори осики.

6. Виклад основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

Для ідентифікації екстракту кори осики у розроблених таблетках було обрано флавоноїди і фенолкарбонові кислоти, які значуще присутні в екстракті та мають виражену і доведену в експериментах з тваринами гастропротекторну дію.

У відповідності до даних літератури і результатів власних попередніх досліджень вміст фенолкарбонових кислот у сухому екстракті кори осики є вищим в порівнянні з вмістом флавоноїдів. Тому, з даних двох класів БАР, з якими пов'язують гастропротекторну дію, було вирішено обрати кількісним маркером якості таблеток вміст фенолкарбонових кислот. Їх кількісне визначення характеризуватиметься меншою похибкою визначення і зміна вмісту даних сполук, при вивченні стабільності розроблених таблеток, буде більш відчутною.

Таким чином, наявність флавоноїдів та фенолкарбонових кислот, а також вміст фенолкарбонових кислот будуть відповідно ідентифікаційними і кількісними показниками якості розроблених таблеток, їх визначена кількість забезпечуватиме ефективність розроблених таблеток.

Для ідентифікації флавоноїдів у таблетках з екстрактом кори осики було вирішено проводити випробування за допомогою ТХШ-методу. Обираючи хроматографічну систему, керувалися вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ) щодо застосовуваних нерухомої (хроматографічні пластинки *Silica Gel 60 F254, фірми Merck*) і рухомої фаз [12, 13]. Серед ряду апробованих рухомих фаз оптимальною виявилася суміш розчинників кислота мурашина безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90). На отриманих хроматограмах спостерігались чітко розділені зони стандартних зразків фенолкарбонових кислот та флавоноїдів, які найчастіше застосовуються при ідентифікації лікарської рослинної сировини (ЛРС), наведеної у ДФУ. Результати визначення факторів рухливості вибраних речовин представлені у табл. 1.

Таблиця 1

Хроматографічні характеристики гідроксикоричних кислот і флавоноїдів у системі розчинників кислота мурашина безводна Р – вода Р – еталацетат Р (6:9:90)

Речовина	R_f	Забарвлення зони
Рутин	0,18	Оранжево-жовта
Кислота хлорогенова	0,32	Блакитна
Гіперозид	0,38	Оранжево-жовта
Лютеолін-7-О-глюкозид	0,42	Жовто-гаряча
Апігенін-7-О-глюкозид	0,48	Жовто-салатова
Ізосаліпурпозид	0,51	Зелено-коричнева
Кислота розмаринова	0,80	Зеленкувато-блакитна
Кислота кофейна	0,82	Блакитна
Лютеолін	0,84	Жовто-гаряча
Кверцетин	0,88	Оранжево-жовта
Ферулова кислота	0,90	Синьо-фіолетова
Апігенін	0,91	Жовто-салатова

Представлені у табл. 1 дані вказують на придатність вибраної системи розчинників для ідентифікації фенолкарбонових кислот і найбільш поширених флавоноїдів як маркерів БАР екстракту кори осики методом ТШХ.

Фенолкарбонові кислоти на хроматограмі випробовуваних розчинів екстракту і вилучення з таблеток проявляються трьома зонами дуже інтенсивної флуоресценції. Проведені ТШХ-дослідження екстракту кори осики, використаного для розробки таблеток, дозволили ідентифікувати з наявних трьох сполук лишу одну – кофейну кислоту.

Також було виявлено три сполуки флавоноїдної природи – два аглікони та один глікозид (гіперозид). Інтенсивність флуоресценції зон флавоноїдів вказує на їхній нижчий вміст в екстракті у порівнянні із фенолкарбоновими кислотами, що, очевидно, пов'язано із вилученням БАР з кори осики за допомогою гарячої води, в якій більш розчинними є фенолкарбонові кислоти.

У верхній частині хроматограм випробовуваних розчинів екстракту і вилучення із таблеток виявляється зона зеленкувато-блакитної флуоресценції середньої інтенсивності, порівняно із зонами флавоноїдів і фенолкарбонових кислот, що за забарвленням флуоресценції та розміщенням на хроматограмі, може відповідати як аглікону флавоноїда, так і фенолкарбоновій кислоті.

Для ідентифікації БАР екстракту кори осики у таблетках було запропоновано наступну методику.

Методика ідентифікації фенолкарбонових кислот і флавоноїдів у таблетках, які містять екстракту кори осики 0,05 г.

Випробовуваний розчин. 0,25 г порошку розтертих таблеток з екстрактом кори осики поміщають у центрифужну пробірку місткістю 25 мл, додають 10 мл *метанолу Р*, витримують в ультразвуковій бані протягом 10 хв і центрифугують.

Розчин порівняння. 0,5 мг кислоти кофейної і 0,5 мг гіперозиду розчиняють у 20,0 мл *метанолу Р*.

На лінію старту хроматографічної пластинки окремо смугами завдовжки 10 мм наносять 25 мкл *випробовуваного розчину* та 5 мкл *розчину порівняння*. Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників кислота мурашина безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90). Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають із камери.

Висушування: сушать на повітрі, а потім витримують при температурі від 100 ºС до 105 ºС протягом 2 хв.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином *10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р* у *метанолі Р*, сушать на повітрі. Потім пластинку обприскують розчином *50 г/л макроголу 400 Р* у *метанолі Р*, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі *розчину порівняння* повинні виявлятися (у порядку зростання R_f): оранжево-жовта флуоресціююча зона, відповідна гіперозиду (R_f=0,38); блакитна флуоресціююча зона, відповідна кислоті кофейній (R_f =0,82).

На хроматограмі *випробовуваного розчину* мають виявлятися оранжево-жовта флуоресціююча зона на рівні зони гіперозиду на хроматограмі *розчину порівняння*; дві жовто-блакитні флуоресціюючі зони (R_f =0,46 і R_f =0,51); блакитна флуоресціююча зона на рівні зони кислоти кофейної на хроматограмі розчину порівняння, відповідна їй за забарвленням; дві оранжеві флуоресціюючі зони (R_f =0,81 і 0,83); зеленкувато-блакитна флуоресціююча зона (R_f =0,92). Крім того, на хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятись також інші слабкі флуоресціюючі зони.

Послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння наведена нижче на рис. 1.

Верхня частина пластинки	
Кислота кофейна: блакитна флуоресценціююча зона	зеленкувато-блакитна флуоресценціююча зона слабка зона оранжевої флуоресценції блакитна флуоресціююча зона (кислота кофейна) слабка зона оранжевої флуоресценції
Гіперозид: оранжево-жовта флуоресціююча зона	жовто-блакитна флуоресценціююча зона жовто-блакитна флуоресценціююча зона слабка оранжево-жовта флуоресціююча зона (гіперозид)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 1. Схема хроматограми в умовах ідентифікації БАР у таблетках з екстрактом кори осики після обробки розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти і макроголу 400 при перегляді в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм

При кількісному визначенні фенолкарбонових кислот у ЛРС ДФУ рекомендує наступні методи: для ехінацеї блідої, вузьколистої і пурпурової коренів, ехінацеї пурпурової трави, артишоку листя, кропиви листя, меліси листя – метод ВЕРХ, для подорожника ланцетолистого і великого листя, ясена листя, ехінацеї пурпурової настойки, м'яточника чорного – спектрофотометрію після одержання забарвленого продукту гідроксикоричних кислот з нітрит-молібденовим реактивом [14]. Поряд із вказаними фармакопейними методами визначення гідроксикоричних кислот, використовують пряму спектрофотометрію – вимірюють поглинання фенолкарбонових кислот при довжині хвилі 325 нм. Для цього розробляють відповідну пробопідготовку, щоб уникнути похибки визначення через поглинання інших класів БАР [15].

При дослідженні електронних спектрів поглинання спиртового розчину екстракту кори осики виявлено, що за ходом кривих світлопоглинання та положенням максимуму поглинання вони відповідають кривим світлопоглинання фенолкарбонових кислот (рис. 2, 3).

Оскільки, при якісному дослідженні екстракту було встановлено наявність кислоти кофейної, то для кількісного визначення нами запропоновано перерахунок вмісту суми фенолкарбонових кислот на кислоту кофейну.

В електронних спектрах поглинання таблеток з екстрактом кори осики спостерігаються криві світлопоглинання, які за ходом кривих, положенням максимумів і мінімумів аналогічні, як для самого екстракту (рис. 4). Таким чином, наявність в електронному спектрі поглинання випробовуваного розчину, отриманого для вилучення з таблеток, всіх максимумів, характерних для кривої світлопоглинання екстракту, свідчить про відсутність взаємодії між допоміжними речовинами і АФІ, що вказує на можливість застосування прямої спектрофотометрії при визначенні суми фенолкарбонових кислот у розроблених таблетках.

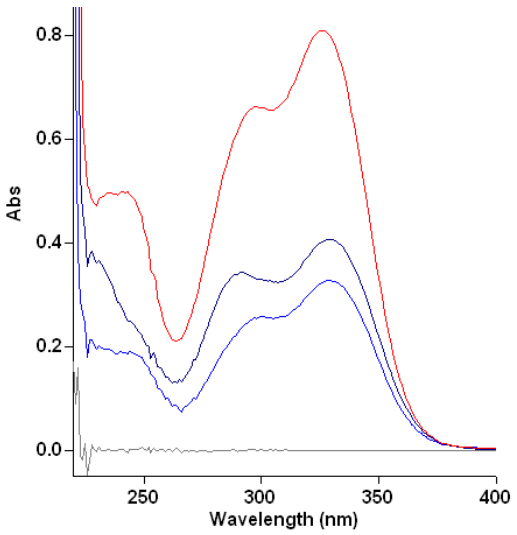

Рис. 2. Електронні спектри поглинання спиртових розчинів (95 % (об/об)) стандартних зразків фенолкарбонових кислот: кофейної, розмаринової і хлорогенової у порядку зменшення оптичної у максимумі поглинання (λ_{max}=325±2 нм)

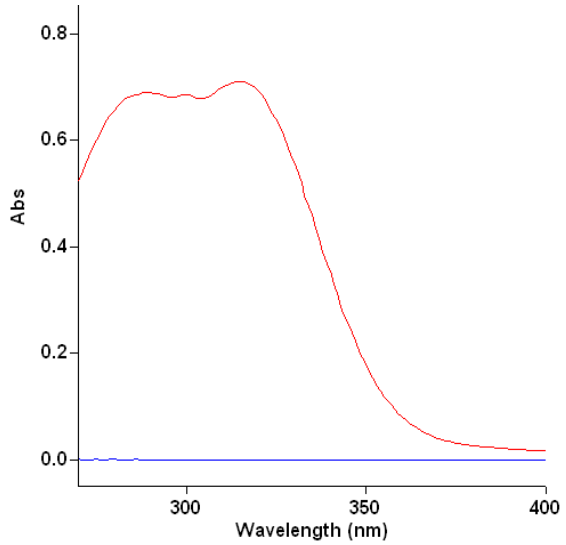

Рис. 3. Електронний спектр поглинання спиртового розчину (95 % (об/об)) екстракту кори осики (λ_{max}=322±3 нм)

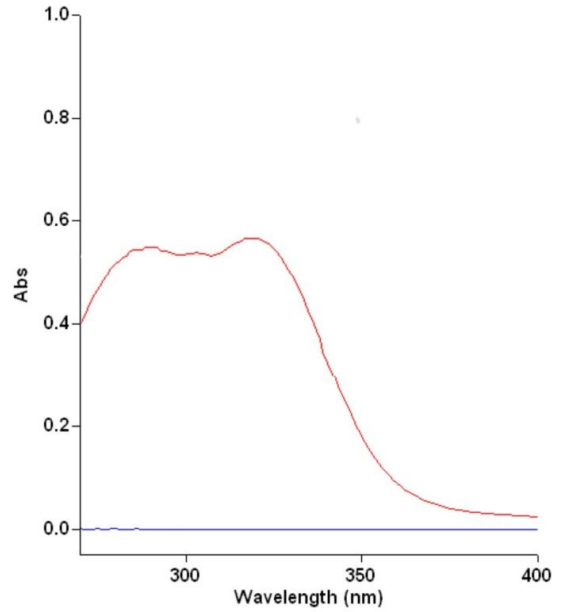

Рис. 4. Електронний спектр поглинання спиртового розчину (95 % (об/об)), отриманого для вилучення з таблеток з екстраком кори осики (λ_{max}=322±3 нм)

Для кількісного визначення суми фенолкарбонових кислот у досліджуваних таблетках з екстрактом кори осики запропонована наступна методика.

Методика кількісного визначення фенолкарбонових кислот в таблетках з екстрактом кори осики.

Випробовуваний розчин. 0,25 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток з екстрактом кори осики поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл спирту (95 % (об/об)) і витримують на ультразвуковій бані протягом 10 хв, доводять об'єм суміші до позначки тим же розчинником, перемішують, дають відстоятися і фільтрують, відкидаючи перші 10 мл фільтрату.

5,0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм розчину спиртом (95 % (об/об)) до позначки, перемішують.

Розчин порівняння. 0,02 г (точна наважка) стандартного зразка кислоти кофейної поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл спирту (95 % (об/об)) і розчиняють та доводять об'єм розчину до позначки тим же розчинником, перемішують.

1,0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм розчину спиртом (95 % (об/об)) до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. Спирт (95 % (об/об)).

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння відносно компенсаційного розчину в кюветі з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 325 нм.

Вміст суми фенолкарбонових кислот в міліграмах, у перерахунку на середню масу таблетки та на кислоту кофейну, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 1000 \cdot b}{A_0 \cdot 5 \cdot m},$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка кислоти кофейної, г;

m – маса наважки порошку розтертих таблеток, взятої для аналізу, г;

b – середня маса таблетки, г.

Виходячи із вмісту екстракту кори осики в одній таблетці (0,05 г), результатів попередніх визначень вмісту фенолкарбонових кислот в екстракті кори осики (6,1±0,2 %), а також, враховуючи результати визначення кількісного вмісту у розроблених таблетках, нами запропоновано кількісний критерій якості таблеток з екстрактом кори осики по 0,05 г – вміст суми фенолкарбонових кислот у перерахунку на середню масу таблетки і кислоту кофейну в межах від 2,7 до 3,3 мг.

7. Висновки

На підставі сучасних підходів щодо стандартизації лікарських засобів рослинного походження, опрацьовано методики ідентифікації та кількісного визначення АФІ у таблетках з екстрактом кори осики. Ідентифікаційним критерієм якості розроблених таблеток з екстрактом кори осики обрано наявність флавоноїдів і фенолкарбонових кислот при їх виявленні методом ТШХ. Теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено, що кількісним критерієм якості розроблених таблеток, виходячи із вмісту фенолкарбонових кислот в екстракті кори осики та його вмісту у розроблених таблетках, а також результатів аналізу таблеток слід обрати вміст фенолкарбонових кислот у перерахунку на середню масу таблетки і кислоту кофейну в межах від 2,7 до 3,3 мг.

Література

1. Медико-демографічна ситуація та організація медичної допомоги населенню у 2010 році: підсумки діяльності системи охорони здоров'я та реалізація Програми економічних реформ на 2010–2014 роки «Заможне суспільство, конкурентоспроможна економіка, ефективна держава» [Текст] / під ред. О. В. Аніщенка. – К.: МОЗ України, 2011. – 104 с.

2. Фадеенко, Г. Д. Место висмута субцитрата в комплексной терапии пациентов с язвенной болезнью, ассоциированной с Helicobacter pylori [Текст] / Г. Д. Фадеенко, Е. В. Колесникова // Сучасна гастроентеролія. – 2015. – № 1 (81). – С. 37–43.

3. Онишків, О. І. Маркетингове дослідження вітчизняного ринку гастроентерологічних лікарських засобів [Текст] / О. І. Онишків, М. Б. Васенда // Фармацевтичний часопис. – 2012. – № 1. – С. 79–82.

4. A02 Препараты для лечения кислотозависимых заболеваний [Электронный ресурс]. – Компендиум. – Режим доступа: http://compendium.com.ua/atc/A02

5. Онишків, О. І. Оптимізація складу та технології таблеток екстракту кори осики [Текст] / О. І. Онишків // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2015. – № 1 (17). – С. 40–43.

6. Пат. № 70554 Україна, МПК A61K 36/00, A61K 31/00. Таблетований противиразковий лікарський засіб [Текст] / Онишків О. І., Грошовий Т. А., Ковальов С. В., Бородіна Н. В., Деркач Н. В., Малоштан Л. М.; Тернопільський держ. мед. університ. ім. І. Я. Горбачевського. – u201202204; заявл. 24.02.12; опубл. 11.06.12, Бюл. № 11.

7. Бородіна, Н. В. Фармакогностичне вивчення рослин роду Populus L. [Текст]: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / Н. В. Бородіна. – Київ, 2007. – 20 с.

8. Пат. 2003054434 Україна A61K 36/89, A61K 36/89, A61P 13/12, A61P 23/00, A61P 25/04, A61P 29/00, A61P 31/04. Спосіб виділення біологічно активних речовин з кори осики, які виявляють антимікробну, репаративну, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність [Текст] / Бородіна Н. В., Ковальов В. М., Дикий І. Л., Деркач Н. В., Малоштан Л. М., Волковой В. А.; Національний фармацевтичний університет. – заявл. 19.05.2003; опубл. 15.12.2004, Бюл. № 12.

9. Турецкова, В. Ф. Осина обыкновенная как перспективный источник получения препаратов противоязвенного и противовоспалительного действия [Текст] / В. Ф. Турецкова, И. Ю. Лобанова, С. С. Рассыпнова и др. // Бюлетень сибирской медицины. – 2011. – № 5. – С. 106–111.

10. Талыкова, Н. М. Получение, анализ и установление антиоксидантной активности отара, настоек и экстракта жидкого из коры осины обыкновенной [Текст] / Н. М. Талыкова, О. А. Екшибарова // Современные наукоемкие технологии. – 2004. – № 6. – С. 31–32.

11. Бородіна, Н. В. Кількісне визначення фенольних сполук Populus tremula L. [Текст] / Н. В. Бородіна, В. М. Ковальов // Фармаком. – 2004. – № 1. – С. 1–4.

12. Державна Фармакопея України. Доповнення 1 [Текст] / Державне п-во "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 492 с.

13. Державна Фармакопея України. Доповнення 2 [Текст] / Державне п-во "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Х.: ДП НЕФЦ, 2008. – 620 с.

14. Державна Фармакопея України. Т. 3 [Текст] / Державне п-во "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". – 2-е вид. – Х.: ДП НЕФЦ, 2014. – 732 с.

15. Yezerska, O. Quantitative determination of hydroxycinnamic acids in chicory root [Text] / O. Yezerska, T. Kalynyuk, L. Vronska // Chemistry and Chemical Technology. – 2013. – Vol. 7, Issue 3. – P. 247–250.

References

1. Anishchenko, O. V. (Ed.) (2011). Medyko-demohrafichna sytuaciia ta orhanizaciia medychnoi dopomohy naselenniu u 2010 rotsi: pidsumky diialnosti systemy okhorony zdorovia ta realizatsia Prohramy ekonomichnykh reform na 2010–2014 roky «Zamozhne suspilstvo, konkurentnospromozhna ekonomika, efektyvna derzhava» [Medical and demographic situation and organization of medical care for population in 2010: results of the health system activity and the implementation of the program of economic reforms in 2010–2014 «Prosperous Society, Competitive Economics, Effective State»]. Kyiv: MPH of Ukraine, 104.

2. Fadeenko, G. D., Kolesnikova, E. V. (2015). Mesto vismuta subcitrata v kompleksnoj terapii pacientov s jazvennoj bolezn'ju, associirovannoj s Nelicobacter pylori. Suchasna gastroenterolija, 1 (81), 37–43.

3. Onyshkiv, O. I., Vasenda, M. B. (2012). Marketyngove doslidzhennja vitchyznjanogo rynku gastroenterologichnyh likars'kyh zasobiv. Farmacevtychnyj chasopys, 1, 79–82.

4. A02 Preparaty dlja lechenija kislotozavisimyh zabolevanij. Kompendium. Available at: http://compendium.com.ua/atc/A02

5. Onyshkiv, O. I. (2015). Optymizacija skladu ta tehnologii' tabletok ekstraktu kory osyky. Aktual'ni pytannja farmacevtychnoi' i medychnoi' nauky ta praktyky, 1 (17), 40–43.

6. Onyshkiv, O. I., Groshovyj, T. A., Koval'ov, S. V., Borodina, N. V., Derkach, N. V., Maloshtan, L. M. (2012). Pat. № 70554 Ukrai'na, MPK A61K 36/00, A61K 31/00. Tabletovanyj protyvyrazkovyj likars'kyj zasib. u201202204; zajavl. 24.02.12; opubl. 11.06.12, Bjul. № 11.

7. Borodina, N. V. (2007). Farmakognostychne vyvchennja roslyn rodu Populus L. Kyiv, 20.

8. Borodina, N. V., Koval'ov, V. M., Dykyj, I. L., Derkach, N. V., Maloshtan, L. M., Volkovoj, V. A. (2004). Pat. 2003054434 Ukrai'na A61K 36/89, A61K 36/89, A61P 13/12, A61P 23/00, A61P 25/04, A61P 29/00, A61P 31/04. Sposib vydilennja biologichno aktyvnyh rechovyn z kory osyky, jaki vyjavljajut' antymikrobnu, reparatyvnu, protyzapal'nu, anal'getychnu ta diuretychnu aktyvnist'. zajavl. 19.05.2003; opubl. 15.12.2004, Bjul. № 12.

9. Tureckova, V. F., Lobanova, I. Ju., Rassypnova, S. S. et. al (2011). Osina obyknovennaja kak perspektivnyj istochnik poluchenija preparatov protivojazvennogo i protivovospalitel'nogo dejstvija. Bjuleten' sibirskoj mediciny, 5, 106–111.

10. Talykova, N. M., Ekshibarova, O. A. (2004). Poluchenie, analiz i ustanvolenie antioksidantnoj aktivnosti otara, nastoek i jekstrakta zhidkogo iz kory osiny obyknovennoj. Sovremennye naukoemkie tehnologii, 6, 31–32.

11. Borodina, N. V., Koval'ov, V. M. (2004). Kil'kisne vyznachennja fenol'nyh spoluk Populus tremula L. Farmakom, 1, 1–4.

12. Derzhavna Farmakopeja Ukrai'ny. Dopovnennja 1 (2004). Kharkiv: RIREG, 492.

13. Derzhavna Farmakopeja Ukrai'ny. Dopovnennja 2 (2008). Kharkiv: DP NEFC, 620.

14. Derzhavna Farmakopeja Ukrai'ny. Vol. 3 (2014). Kharkiv: DP NEFC, 732.

15. Yezerska, O., Kalynyuk, T., Vronska, L. (2013). Quantitative determination of hydroxycinnamic acids in chicory root. Chemistry and Chemical Technology, 7 (3), 247–250.

Дата надходження рукопису 24.02.2016

Онишків Оксана Іванівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра фармації, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46001
E-mail: mojapoczta015@gmail.com

Вронська Людмила Вікторівна, кандидат хімічних наук, доцент, кафедра фармації, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46001
E-mail: vronska_liudmyla@ukr.net

Грошовий Тарас Андрійович, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46001
E-mail: grochovuy.tern@mail.ru

UDC 547,792:547,856
DOI: 10.15587/2313-8416.2016.65166

THE SYNTHESIS, COMPUTER PREDICTION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY AND THE ACUTE TOXICITY OF 4-ARYL-5-OXO-4,5-DIHYDRO[1,2,4]TRIAZOLO[4,3-*a*]QUINAZOLINE-8-CARBOXAMIDES

© S. Danylchenko, O. Drushlyak, S. Kovalenko, S. Kovalenko

Aim. *The aim of present study was to conduct modelling of the virtual library of 4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazoline-8-carboxamides, to determine the most probable biological activity spectrum and the acute toxicity of studied compounds by PASS and GUSAR software, sort out the most perspective substances and develop preparative protocols for their synthesis.*

Methods. *Using the PASS program computer prediction of the biological activity of 4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazoline-8-carboxamides has been performed. Prediction of the acute toxicity has been carried out by the GUSAR software. The structure of the compounds synthesized has been proven by elemental analysis and ^{1}H NMR spectroscopy data.*

Results. *The synthesis of 4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazoline-8-carboxamides has been conducted starting from corresponding methyl 3-aryl-4-oxo-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazoline-7-carboxylates, which were converted into corresponding 3-aryl-2-hydrazino-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-7-carbohydrazides by treatment with hydrazine hydrate. Heating of these 2-hydrazinoquinazolin-4(3H)-ones with acetylacetone was resulted in 4-aryl-8-[(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)carbonyl]-1-methyl[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5(4H)-ones formation. Following substitution of pyrazole moiety by interaction of these compounds with primary amines led to destinated 4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazoline-8-carboxamides. The PASS program computer prediction of the biological activity of 4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazoline-8-carboxamides has allowed identifying the types of activity of studied compounds and sorting out the leaders with potential antineurotic activity, which are perspective for male reproductive and erectile dysfunction treatment. Prediction of the acute toxicity has been carried out by the GUSAR software, which allowed to refer them to slightly toxic (class 4) or practically nontoxic (class 5) substances.*

Conclusions. *The obtained compounds are perspective objects for further investigations as slightly toxic (nontoxic) substances with potential antineurotic activity, which are perspective for male reproductive and erectile dysfunction treatment.*

Keywords: *synthesis, 4-aryl-5-oxo-4,5-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazoline-8-carboxamides, computer prediction, biological activity, acute toxicity*

Мета. *У даному дослідженні було поставлено за мету провести моделювання віртуальної бібліотеки 4-арил-5-оксо-4,5-дигідро[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-8-карбоксамідів, за допомогою комп'ютерних програм PASS та GUSAR визначити найбільш ймовірний спектр біологічної активності та гостру токсичність досліджуваних сполук, а також виділити найбільш перспективні сполуки та розробити препаративні методи їх синтезу.*

Методи. *Комп'ютерне прогнозування біологічної активності 4-арил-5-оксо-4,5-дигідро[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-8-карбоксамідів проведено за допомогою програми PASS. Комп'ютерне прогнозування гострої токсичності здійснено за програмним забезпеченням GUSAR. Будову синтезованих сполук доведено за допомогою елементного аналізу та даних ^{1}Н ЯМР спектроскопії.*