

ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 615.281.8:542.98

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО СОЕДИНЕНИЯ VMA-99-56 В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБАХ

Л.А. Смирнова, Н.Б. Хамлова, А.Ф. Рябуха

Кафедра клинической фармакологии ВолГМУ

Проблема изыскания новых высокоэффективных лекарственных веществ остается актуальной не только в нашей стране, но и во всем мире. Создание нового оригинального лекарственного вещества является результатом развития знаний и достижений в области химических, биологических, медицинских и других наук; проведения экспериментальных исследований; использования комплекса самых совершенных физико-химических методов, а также вложения крупных материальных затрат.

В НИИ Фармакологии при ВолГМУ в лаборатории синтеза противовирусных средств под руководством профессора, д-ра хим. наук А.А. Озерова были синтезированы новое фармакологическое вещество, производное аденина с противовирусным действием с лабораторным шифром VMA-99-56.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработать метод количественного исследования противовирусного вещества VMA-99-56 в биологических пробах для проведения фармакокинетических исследований.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для количественного определения соединений нами был разработан метод ВЭЖХ. Использовались жидкостный хроматограф "SHIMADZU" серии LC-10AD с диодной матрицей (Япония). Для приготовления мобильной фазы использовали ацетонитрил (УФ-210) ("Лекбиофарм", Россия) (30%) и дистиллированную воду (70%) на колонке C18 4,6×250 мм, 5μm (Supelco). Чувствительность метода составляет 0,1 μг/мл. Время удерживания составило 3,24-4 мин.

Экстракцию изучаемых соединений из плазмы крови производили в соотношении 1:1. Образцы встряхивали в течение десяти минут в ультразвуковой ванне "Серьга" для преципитации белков и центрифугировали в течение 15 минут при 3000 об/мин на центрифуге СМ-50, после чего надосадоч-

ную жидкость отбирали и вводили в инжектор с объемом петли 20 мкл. Степень извлечения изучаемого соединения составила 102,34±4,87%. При этом не наблюдалось зависимости степени экстракции от концентрации соединения в пробе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для количественного определения веществ использовали метод абсолютной калибровки. Зависимость площадей пиков от концентрации веществ анализировалась методом регрессионного анализа в диапазоне концентраций от 0,5 до 25 мг/мл. В результате было установлено, что калибровочные кривые носят линейный характер с коэффициентом регрессии R^2 равным 0,99 (см. рис.). Для изучаемых соединений были определены внутрисуточные процентные колебания (повторяемость метода), которые не превышали 20% в изучаемых диапазонах концентраций. Междневные процентные колебания (воспроизводимость метода) для изучаемых соединений не превышали 10% (см. табл.).

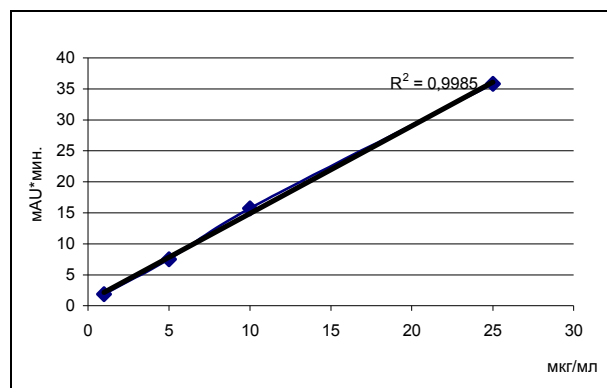


Рис. Зависимость площади под хроматографическим пиком от концентрации соединения VMA-99-56

Таблица

Показатели воспроизводимости и повторяемости метода количественного определения соединения VMA-99-56 с использованием ВЭЖХ в диапазоне линейной зависимости площади хроматографического пика от концентрации растворов ($M \pm m$)

Концентрация, мкг/мл	Повторяемость, $\pm \Delta$ %			Воспроизводимость (ср. ошибка измерения), %
	1-й день	2-й день	3-й день	
0,5	—	—	—	—
1	-3,7	0,52	27,51	10,57
5	7,8	17,57	28,04	17,80
10	0,6	13,44	32,79	15,61
25	7,2	-3,29	52,95	18,95

При повторном проведении анализа, после 72 часов хранения водных растворов соединений при комнатной температуре, средние абсолютные процентные колебания находились в тех же пределах, показывая стабильность изучаемых веществ. При изучении влияния процессов замораживания и таяния было обнаружено, что средние абсолютные про-

центные колебания для изучаемых веществ находились в тех же пределах, что определяет стабильность веществ под влиянием данных факторов.

Разработанные хроматографические методы анализа обладают достаточной селективностью и позволяют определять в биологических пробах как само лекарственное вещество, так и его возможные метаболиты. При этом время удерживания стандарта позволяет отделять возможные метаболиты с меньшими временами удерживания от "мертвого объема" и фоновых веществ биологической пробы.

Методы извлечения подобраны оптимально и практически не влияют на среднюю ошибку измерения хроматографических методов количественного определения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработанные методы количественного определения являются высокоселективными и высокочувствительными, что позволяет эффективно использовать их для проведения фармакокинетических исследований.

© Коллектив авторов, 2006

УДК 615.31:547.854.4:542.91:615.281.8

ВЛИЯНИЕ АЛКИЛЬНЫХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ В БОКОВОЙ ЦЕПИ ПРИ ЭКЗОЦИКЛИЧЕСКОМ АТОМЕ АЗОТА НА АНТИ-ВИЧ-1 АКТИВНОСТЬ *IN VITRO* НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1-(БЕНЗИЛОКСИМЕТИЛ)-5-(АРИЛАМИНО)УРАЦИЛА

А.А. Лобачев, А.А. Озеров, М.С. Новиков, Т. Хартман, Р.У. Букхайт

НИИ фармакологии ВолГМУ

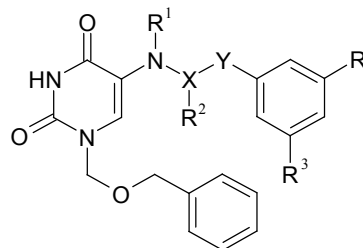
Антивирусный потенциал производных 5-(ариламино)урацила остается до настоящего времени не выясненным, несмотря на их структурное подобие многим высокоактивным противовирусным агентам нуклеозидной природы, применяющимся для лечения ВИЧ-инфекции в качестве важнейших компонентов комплексной высокоинтенсивной антиретровирусной терапии [5, 7], что делает перспективным и актуальным поиск новых противовирусных лекарственных средств на их основе [1–3]. Ранее в лаборатории синтеза противовирусных средств НИИ фармакологии ВолГМУ было обнаружено, что структурная модификация базовой структуры 1-(бензилоксиметил)-5-(ариламино)урацила, заключающаяся во введении дополнительных алкильных заместителей в различные положения боковой цепи при атоме азота N^1 , привела в целом к снижению антивирусных свойств соединений данного ряда, повышению цитотоксичности и увеличению ингибиторной концентрации приблизительно на порядок [4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние дополнительных алкильных заместителей в ариламинном фрагменте новых производных 1-(бензилоксиметил)-5-(ариламино)урацила на их вирусингибиторные свойства.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами были синтезированы новые N^1 -замещенные производные 5-аминоурацила общей формулы:



где: X = связь, CH , CH_2 ; Y = связь, CH_2 ; $R^1 = H$, CH_3 ; $R^2 = H$, CH_3 , C_3H_7 ; $R^3 = H$, CH_3 .