

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ И ПОДЛИННОСТИ МЕЛОКСИКАМА В ПРЕПАРАТЕ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Петров В.В., Пипкина Т.В., Романова Е.В., Новиков Е.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. Разработка ветеринарных препаратов является очень важным этапом обеспечения лекарственной безопасности в области ветеринарной медицины для каждого государства. Основанием для разработки инъекционного препарата содержащего мелоксикам, явилась острая производственная необходимость в готовых высокоэффективных лекарствах содержащих нестероидные противовоспалительные средства в ветеринарии, а так же с целью импортозамещения.

Так как, ВЭЖХ является одной из наиболее точной методик определения действующих веществ в ветеринарных препаратах, мы остановились именно на этом методе.

Принцип действия жидкостного хроматографа заключается в следующем: раствор анализируемой смеси с помощью узла ввода пробы вводится в верхнюю часть хроматографической колонки. С помощью насоса анализируемая смесь прокачивается элюентом (подвижная фаза – ПФ) через хроматографическую колонку, в которой происходит разделение анализируемой смеси на отдельные вещества (компоненты). Вытекающий из колонки элюат, содержащий отдельные компоненты анализируемой смеси, регистрируется детектором, показания которого фиксируются регистратором. Если необходимо выделение из смеси какого-либо вещества, элюат с этим веществом собирается коллектором (препаративный вариант). Отличительной особенностью ВЭЖХ является использование высокого давления (до 400 бар) и мелкозернистых сорбентов (обычно 3-5 мкм, а в настоящее время до 1,8 мкм). Это позволяет разделять сложные смеси веществ быстро и полно (среднее время анализа от 3 до 30 мин).

Ветеринарные препараты, обладающие обезболивающим, противовоспалительным и жаропонижающим свойством имеют важное значения для организации комплексного лечения больных животных при многих заболеваниях. Их применение в качестве средств патогенетической и симптоматической терапии при воспалительных заболеваниях, болезнях с болевым синдромом, колике, маститах, эндометритах, артритах, артрозах, для купирования постоперационных болей и др. позволяет значительно повысить терапевтическую эффективность схем лечения. При этом чаще всего показано использование нестероидных противовоспалительных средств (НПВС).

Нестероидные противовоспалительные препараты – группа лекарственных средств, обладающих обезболивающим, жаропонижающим и противовоспалительным эффектами, уменьшают боль, лихорадку и воспаление. Использование в названии термина «нестероидные» подчеркивает их отличие от глюкокортикоидов, и указывает на то, что они не обладают гормональными эффектами.

Из данной группы препаратов одним из наиболее востребованным ветеринарной практикой является мелоксикам. Он обладает хорошей переносимостью разными видами животных. Поэтому является актуальным

разработка препаратов ветеринарных на основе мелоксикама для применения их животным при болезнях с болевым синдромом, воспалительной реакцией и лихорадкой.

Мелоксикам относится к нестероидным противовоспалительным средствам класса оксикамов (производное эноловой кислоты), обладает выраженной противовоспалительной и анальгетической активностью, проявляет жаропонижающие свойства. Он избирательно ингибирует фермент циклооксигеназу-II, подавляет синтез простагландинов (медиаторов воспаления), обеспечивая противовоспалительный и жаропонижающий эффект, незначительно влияет на циклооксигеназу-I, сводя к минимуму развитие побочных эффектов, таких, как кровотечения, образование язв и нарушение функции почек. Обладает антитоксическими свойствами в отношении эндотоксина *Esherichia coli*.

Мелоксикам полностью всасывается из места введения; биодоступность при внутримышечном введении близка к 100%. После внутримышечного введения максимальная концентрация активнодействующего вещества создается в крови через 60-90 минут и удерживается на терапевтическом уровне до 24 часов.

Мелоксикам почти полностью метаболизируется в печени. Выводится в равной мере с фекалиями и почками преимущественно в виде метаболитов. В неизменном виде с фекалиями выводится меньше 5% от величины суточной дозы, в моче в неизменном виде препарат обнаруживается только в следовых количествах. Средний период полувыведения составляет 20 часов.

Препарат применяют животным в качестве противовоспалительного, обезболивающего и жаропонижающего средства в комплексной терапии при акушерско-гинекологических, желудочно-кишечных, респираторных патологиях, а также при острых и хронических заболеваниях опорно-двигательного аппарата, сопровождающихся болью и воспалением (переломы, травматические артропатии, растяжение связок, остеоартриты, хронические дегенеративные заболевания суставов и др.) и устранения болевого синдрома различной этиологии у животных.

Материалы и методы исследований. Разработку состава препарата, аналитического контроля и контроль качества методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проводили в лаборатории кафедры фармакологии и токсикологии УО ВГАВМ и лаборатории отдела контроля качества ООО «Рубикон», г. Витебск.

В состав препарата в качестве действующего вещества входит мелоксикам 20 мг/см³, а в качестве вспомогательных веществ использовали пропиленгликоль, поливинилпирролидон, кислоту соляную, диметилацетамид, диметилформамид, нипагин, нипазол, натрия гидроксид и воду для инъекций.

Разработанный препарат (Раствор мелоксикама 2% для инъекций) представляет собой прозрачную жидкость от светло-желтого до желтого цвета, без осадка и механических включений.

Для определения массовой концентрации мелоксикама в препарате использовали: хроматограф жидкостный «Agilent 1200» со спектрофотометрическим детектором; колонку хроматографическую Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 4,6×250 мм – 5 мкм; весы лабораторные высокого класса точности; рН-метр с точностью измерения до 0,1 единицы; колбы мерные вместимостью 50 и 100 см³; цилиндры мерные вместимостью 50, 100 и 500 см³; стакан вместимостью 500 см³, пипетки вместимостью 1 и 2 см³; рабочий стандартный образец мелоксикама, калия дигидрофосфат; натрия гидроксида раствор разведенный по ГФ; метанол для ВЭЖХ; вода очищенная.

Перед проведением испытаний готовили буферный раствор. Для этого в стакан вместимостью 500 см³ вносили (0,50±0,01) г калия дигидрофосфата и

(500±1) см³ воды очищенной и перемешали до растворения. рН полученного раствора довели до 6,0 ЕД разведенным раствором натрия гидроксида.

Подвижную фазу приготавливали путем внесения в мерную колбу вместимостью 100 см³ (55,0±0,5) см³ метанола и довели буферным раствором до метки. Перемешивали, фильтровали и дегазировали.

Рабочий стандартный раствор мелоксикама готовили следующим образом: в мерную колбу вместимостью 50 см³ вносили (200,0±0,5) мг образца мелоксикама, добавляли (30 – 40) см³ воды очищенной и (2,0±0,1) см³ разведенного раствора натрия гидроксида, перемешивали до растворения и довели объем до метки водой очищенной. (1,00±0,01) см³ полученного раствора вносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и довели объем до метки подвижной фазой, перемешивали. Перед хроматографированием раствор фильтровали и дегазировали.

Для приготовления раствора препарата в мерную колбу вместимостью 50 см³ вносили (1,00±0,01) см³ препарата, добавляли (30 – 40) см³ воды очищенной и (2,0±0,1) см³ разведенного раствора натрия гидроксида, перемешивали и довели объем до метки водой очищенной. (1,00±0,01) см³ полученного раствора вносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и довели объем до метки подвижной фазой, перемешивали. Перед хроматографированием раствор фильтровали и дегазировали.

Для проведения исследований устанавливали режим работы хроматографа: длина волны – 365 нм; скорость подачи подвижной фазы – 0,5 см³/мин; термостат колонки – 30 °С; объем вводимой пробы – 10 мкл.

После установления режима работы в хроматограф вводили последовательно рабочий стандартный раствор мелоксикама и раствор препарата. Регистрировали хроматограммы.

После окончания режима хроматографирования обрабатывали результаты.

Массовую концентрацию мелоксикама в препарате (X) в мг/см³ рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S_{\text{пр}} \times m_{\text{ст}}}{S_{\text{ст}} \times V_{\text{пр}}} \times K_{\text{ст}},$$

где $S_{\text{пр}}$ – площадь пика мелоксикама в растворе препарата;

$S_{\text{ст}}$ – площадь пика рабочего стандартного раствора мелоксикама;

$m_{\text{ст}}$ – масса навески образца мелоксикама, мг;

$V_{\text{пр}}$ – объем препарата, взятый для исследования, см³;

$K_{\text{ст}}$ – содержание мелоксикама в образце, мг/мг.

За результат контроля принимали среднее арифметическое трех параллельных определений, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 5 %.

Результаты исследований. При проведении расчетов была определена массовая концентрация мелоксикама в препарате, которая составила 0,021 мг/см³, которая укладывается в границы показателя нормы для данного лекарственного средства (0,016-0,024 мг/см³).

Определение подлинности мелоксикама осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, как указано выше. На хроматограммах время выхода пика раствора препарата совпадало со временем выхода пика рабочего стандартного раствора мелоксикама. Отличия указанных величин не превышали 3%, что подтверждало подлинность мелоксикама в готовом препарате.

Заключение. Исходя из вышеизложенного, можно заключить что, предложенный нами метод определения мелоксикама в ветеринарном препарате для инъекций как количественно, так и качественно воспроизводим и может использоваться для контроля качества лекарственных средств его содержащих. Данная методика может быть использована для оформления технических нормативных правовых актов на производство ветеринарных препаратов и в учебном процессе по курсу фармацевтической химии.

Литература. 1. Незаразная патология крупного рогатого скота в хозяйствах с промышленной технологией / А. М. Яшин [и др.]. – СПб. : Лань, 2019. – 220 с. 2. Данилевская, Н. В. Справочник ветеринарного терапевта / Под ред. А. В. Коробова, Г. Г. Щербакова / серия «Мир медицины». – СПб., 2000. – С. 65-82. 3. Кирк, Р. Современный курс ветеринарной медицины Кирка / Р. Кирк, Д. Бонагура. – Москва : Аквариум-принт, 2014. – 1376 с. 4. Пламб, Дональд К. Фармакологические препараты в ветеринарной медицине / Пер. с англ. / В двух томах. Том 1. (А-Н) – Москва : Издательство «Аквариум», 2019. – 1040 с. 5. Пламб, Дональд К. Фармакологические препараты в ветеринарной медицине / Пер. с англ. / В двух томах. Том 2. (О-Я) – Москва : Издательство «Аквариум», 2019. – 1040 с. 6. Субботин, В. М. Ветеринарная фармакология / В. М. Субботин, И. Д. Александров. – Москва : КолосС, 2013. – 720 с.

УДК 619:615

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ПРЕПАРАТ «ТРИКОЛИФЛОКС» И ЕГО ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА В ОСТРОМ ОПЫТЕ НА ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШАХ

Петров В.В., Романова Е.В., Новиков Е.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. Ветеринарный препарат «Триколифлоркс» представляет собой прозрачную вязкую жидкость от светло-желтого до темно-желтого цвета. В 1 мл препарата содержится: левофлоксацина гемигидрата - 100 мг, колистина сульфата – 1000 000 МЕ, триметоприма – 50 мг.

Триколифлоркс относится к комплексным антибактериальным препаратам широкого спектра действия.

Левофлоксацин – синтетическое противомикробное средство из группы фторхинолонов третьего поколения.

Левофлоксацин обладает широким спектром бактерицидного действия в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе *Enterococcus spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Haemophilus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Moraxella catarrhalis*, *Pasteurella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium necroforum*, а также *Chlamydia spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Rickettsia spp.*

Механизм действия препарата заключается в избирательном блокировании ДНК-гиразы (топоизомераза II) и топоизомеразы IV, что нарушает суперспирализацию и сшивку разрывов ДНК, ингибирует синтез ДНК, нарушает метаболизм в цитоплазме, клеточной стенке и мембранах микроорганизма.

К левофлоксацину чувствительны микроорганизмы резистентные к фторхинолонам предыдущих поколений, в том числе к энрофлоксацину. Левофлоксацин хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте и распределяется в органы и ткани не равномерно. Максимальная его концентрация в крови достигается через два часа после приема препарата. Выводится из