

Сасу Нурсия Вазиховна

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МОДИФИЦИРОВАННОГО ГЕНТАМИЦИНА

Перспективной тенденцией в современной фармакологии является создание лекарственных форм пролонгированного действия. Реализация лекарственных форм с модифицированным высвобождением в зоне, охваченной патологическим процессом, позволяет резко снизить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, сократить терапевтическую дозу лекарства и кратность его введения. На базе Кафедры биохимии и биотехнологии Биолого-химического факультета Удмуртского государственного университета были проведены эксперименты по модификации гентамицина сополимером винилпирролидона с диацеталем акролеина с целью исследования антимикробных и фармакокинетических параметров данного конъюгата.

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2016/8/20.html

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2016. № 8 (110). С. 75-79. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html

Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2016/8/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net
Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

УДК 57; 579:579.2

Биологические науки

Перспективной тенденцией в современной фармакологии является создание лекарственных форм пролонгированного действия. Реализация лекарственных форм с модифицированным высвобождением в зоне, охваченной патологическим процессом, позволяет резко снизить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, сократить терапевтическую дозу лекарства и кратность его введения. На базе Кафедры биохимии и биотехнологии Биолого-химического факультета Удмуртского государственного университета были проведены эксперименты по модификации гентамицина сополимером винилпирролидона с диацеталем акролеина с целью исследования антимикробных и фармакокинетических параметров данного конъюгата.

Ключевые слова и фразы: антибиотики; полимеры; модификация; пролонгированные свойства; антимикробная активность; период полувыведения.

Сасу Нурсия Вазиховна

Удмуртский государственный университет

nursiya_valieva@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МОДИФИЦИРОВАННОГО ГЕНТАМИЦИНА

Перспективной тенденцией в современной фармакологии является создание лекарственных форм пролонгированного действия. Пролонгированные лекарственные формы или лекарственные формы с модифицированным высвобождением – группа лекарственных форм с измененными, по сравнению с обычной формой, механизмом и характером высвобождения лекарственного вещества [4].

Пролонгирование действия лекарственных веществ может быть обеспечено за счёт уменьшения скорости высвобождения их из лекарственной формы, депонирования лекарственного вещества в органах и тканях, снижения степени и скорости инактивации лекарственных веществ ферментами и скорости выведения из организма. Таким образом, пролонгирования действия лекарств можно достигнуть с использованием физиологических, химических и технологических методов [9].

Реализация лекарственных форм с модифицированным высвобождением в зоне, охваченной патологическим процессом, позволяет резко снизить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, сократить терапевтическую дозу лекарства и кратность его введения [4; 10; 11].

Среди многих лекарственных веществ антибиотики являются основными средствами для лечения бактериальных инфекций и достаточно широко применяются в медицинской практике в виде различных лекарственных форм. Лекарственная устойчивость остаётся важнейшей проблемой антибиотикотерапии, поэтому повышение устойчивости антибиотиков к действию инактивирующих факторов, снижение их токсичности, целевой и модифицированный транспорт являются актуальными проблемами фарминдустрии [7-9].

Благодаря своей подвижности, антибиотики легко перемещаются в пространстве, быстро вступают в соприкосновение и взаимодействие друг с другом и другими высокомолекулярными соединениями, преобразуя или расщепляя последние, что позволяет использовать их для химической модификации с целью изменения механизма и характера транспорта в организме [3].

На базе Кафедры биохимии и биотехнологии Биолого-химического факультета Удмуртского государственного университета были проведены эксперименты по модификации гентамицина сополимером винилпирролидона с диацеталем акролеина [5] с целью исследования антимикробных и фармакокинетических параметров данного конъюгата.

Материалы и методы

Оборудование:

1. Спектрофотометр ПЭ-5400В – НПО «ЭКРОС», Россия.
2. Детектор, рН-метр – «Radelkis», Чехословакия.
3. Коллектор фракций *Ultrorac II* – «LKB», Швеция.
4. Колонка хроматографическая – «Pharmacia», Швеция.
5. Вертикальный фотометр «Multiskan Acsent» – «TermoLabSystems», Финляндия.

Материалы:

1. *Sephadex G-25* – «Pharmacia», Швеция.
2. Лабораторный штамм *E. coli* и мясо-пептонный агар.
3. Раствор гентамицина для внутримышечного введения – «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь.
4. Совиаль (сополимер винилпирролидона с диацеталем акролеина) – «Институт высокомолекулярных соединений», Россия.

5. Набор для иммуноферментного выявления гентамицина № 5111GEN1/A «Gentamicin ELISA» – «EuroProxima», Нидерланды.

Все использованные российские реактивы марки ХЧ, ЧДА или ОСЧ.

Животные: кролики (самцы, возраст 1,5 года) с массами $m_1 = 3,565$ кг, $m_2 = 3,334$ кг, $m_3 = 3,401$ кг.

Методы:

1. Определение антимикробной активности

В чашки Петри наливали 20 мл расплавленной питательной среды определенного состава, зараженной тест-культурой *E. Coli*. На застывшей поверхности агара по трафарету вырезали лунки диаметром 8 мм в толще агара стерильным сверлом. В цилиндры или лунки вносили испытуемые растворы в объеме 0,1 мл. После инкубации в термостате при 36-38°C в течение 16-18 ч циркулем измеряли диаметры зон задержки роста тест-микроба, отчетливо видных вокруг лунок [2].

2. Исследование фармакокинетических параметров

Исследование фармакокинетических параметров модифицированного и немодифицированного гентамицина проводили на основе однокамерной модели [1]. В качестве немодифицированного гентамицина использовали раствор для внутримышечного введения с концентрацией 40 мг/мл. Терапевтическая доза, применяемая для лечения заболеваний, составляет 3-5 мг/кг веса реципиента. Рассчитали количество вводимого гентамицина и отбирали образцы крови кролика до введения, а также через 5 мин, 1, 2, 3, 4, 5, 6 часов после введения препарата. Далее центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об./мин и в полученной сыворотке крови определяли концентрацию гентамицина микробиологическим методом и методом иммуноферментного анализа (ИФА). Далее строили график зависимости $\ln C$ от времени, по которому определяли константу скорости и период полувыведения данного препарата.

3. Количественное определение гентамицина с помощью твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием набора «Gentamicin ELISA»

Тест представляет собой прямой конкурентный метод иммуноферментного анализа, основанный на взаимодействии гентамицина со специфическими антителами. Гентамицин, который содержится в исследуемом образце, и гентамицин, связанный с ферментом, конкурируют за центры связывания на антителах, которые иммобилизованы на стенке планшета. После отмывки планшета и добавления субстратного раствора происходит изменение цвета: голубая окраска указывает на протекание ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации гентамицина в препарате. Концентрацию гентамицина в препарате определяли по стандартной калибровочной кривой.

Результаты и обсуждение

Антимикробная активность модифицированного гентамицина

Из литературных данных [6] известно, что модификация гентамицина может привести к потере антимикробной активности антибиотика и приобретению резистентности к нему микроорганизмов. Определяли антимикробную активность модифицированного гентамицина методом диффузии в агар на плотной питательной среде [2]. Для анализа использовали образцы модифицированного и немодифицированного гентамицина с концентрацией 3 мг/мл, объёмом 100 мкл. Количественное определение гентамицина до и после модификации проводили методом твёрдофазного иммуноферментного анализа. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1.

Антимикробная активность гентамицина до и после модификации

Шифр	$C_{\text{ген-а}}, \text{мг/мл}^*$	$d_{\text{кольца}}, \text{мм}$	АМАГ**
Г	$3,01 \pm 0,0203$	$25 \pm 0,001$	+
МГ	$3,45 \pm 0,0794$	$25 \pm 0,001$	+

* – концентрация образцов, определённая методом ИФА;

** – антимикробная активность гентамицина;

Г – нативный гентамицин, МГ – модифицированный гентамицин.

Анализ полученных результатов показал, что модификация гентамицина не приводит к потере его антимикробной активности (Табл. 1).

Резистентность микроорганизмов к гентамицину приобретается за счёт нескольких механизмов [6], например ацилирования его аминогрупп с образованием амида. В нашем случае характер взаимодействия гентамицина с полимером – другой, что может быть причиной сохранения антимикробной активности модифицированного гентамицина.

Для определения степени антимикробной активности модифицированного гентамицина строили калибровочные зависимости диаметра зон задержки роста тест-микроорганизмов от концентрации антибиотика до и после модификации (Рис. 1). Полученные результаты показали, что уровень антимикробной активности гентамицина после модификации сохраняется.

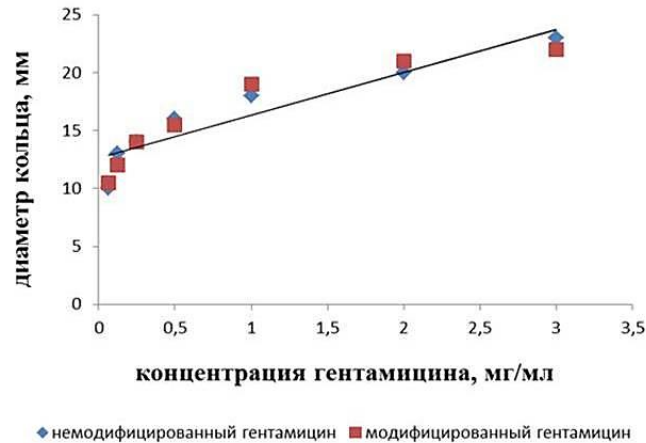


Рис. 1. Калибровочные зависимости диаметра зон задержки роста тест-микробов от концентрации антибиотика до и после модификации

Исследование свойств модифицированного гентамицина *in vivo*

Провели определение фармакокинетических параметров модифицированного и немодифицированного гентамицина с целью изучения времени циркуляции антибиотика в организме реципиента до и после модификации. Исследование фармакокинетических параметров (период полувыведения) модифицированного и немодифицированного гентамицина проводили на основе однокамерной модели [1]. В качестве реципиентов использовали кроликов с объемом крови $V_1 = 223$ мл, $V_2 = 239$ мл и $V_3 = 228$ мл, соответственно (из расчета 6,7% от массы кролика). Поскольку объем вводимого препарата ($V = 10,42$ мл) составляет менее 5% всего объема организма реципиента, значит вводимый препарат находится только в крови, т.е. в пределах одной камеры.

В однокамерной модели предполагается, что лекарственное вещество (модифицированный и немодифицированный гентамицин) введено в камеру (кровь) одновременно. Скорость его выведения пропорциональна количеству вещества, находящегося в камере. Уравнение, описывающее данную модель, выглядит так:

$$\ln C = \ln C_0 - k \cdot t, \quad (1)$$

где C_0 – начальная концентрация вводимого препарата, C – концентрация препарата в момент времени t , k – константа элиминации антибиотика.

Терапевтическая доза, которая используется для лечения заболеваний, составляет 3-5 мг/кг веса реципиента. Для введения использовали 2,5-кратный избыток терапевтической дозы с целью повышения вероятности индикации гентамицина микробиологическим методом с чувствительностью 0,0625 мг/мл. Количество введенного гентамицина $Q = 41,68$ мг, объем $V = 10,42$ мл и концентрация $C_0 = 4$ мг/мл. После введения препарата отбирали образцы крови кролика через 5 мин, 1, 2, 3, 4, 5, 6 часов, центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об./мин и в полученной сыворотке крови определяли концентрацию гентамицина микробиологическим методом и методом твердофазного иммуоферментного анализа (Табл. 2). В качестве контроля использовали сыворотку крови до введения препарата. Далее строили график зависимости $\ln C$ от времени (Рис. 2), по которому определяли константу скорости процесса и период полувыведения данного препарата.

Таблица 2.

Концентрация гентамицина до и после модификации в сыворотке крови кроликов

Шифр	Концентрация образцов по ИФА, мг/мл		Концентрация образцов по диаметру задержки роста микроорганизмов, мг/мл	
	Время, ч	C, мг/мл	Время, ч	C, мг/мл
<i>Нативный гентамицин</i>				
Опыт 1 (кролик 1)	1/12	327±0,212	1/12	330±0,696
	1	169±0,424	1	175±0,569
	2	140±0,282	2	144±0,945
	3	119±0,283	3	123±0,565
Опыт 2 (кролик 2)	1/12	339±0,424	1/12	345±0,494
	1	194±0,353	1	189±0,424
	2	149±0,565	2	157±0,777
	3	144±0,001	3	144±0,945
Опыт 3 (кролик 3)	1/12	344±0,012	1/12	337±0,365
	1	176±0,704	1	173±0,546
	2	144±0,424	2	150±0,328
	3	131±0,282	3	130±0,458

Шифр	Концентрация образцов по ИФА, мг/мл		Концентрация образцов по диаметру задержки роста микроорганизмов, мг/мл	
	Время, ч	С, мг/мл	Время, ч	С, мг/мл
<i>Модифицированный гентамицин</i>				
Опыт 1 (кролик 1)	1/12	2748±0,141	1/12	2750±0,012
	1	203±0,212	1	200±0,569
	2	91±0,285	2	95±0,458
Опыт 2 (кролик 2)	1/12	2789±0,326	1/12	2785±0,769
	1	241±0,653	1	246±0,986
	2	118±0,036	2	129±0,369
Опыт 3 (кролик 3)	1/12	2755±0,061	1/12	2761±0,489
	1	231±0,089	1	227±0,759
	2	119±0,458	2	113±0,112

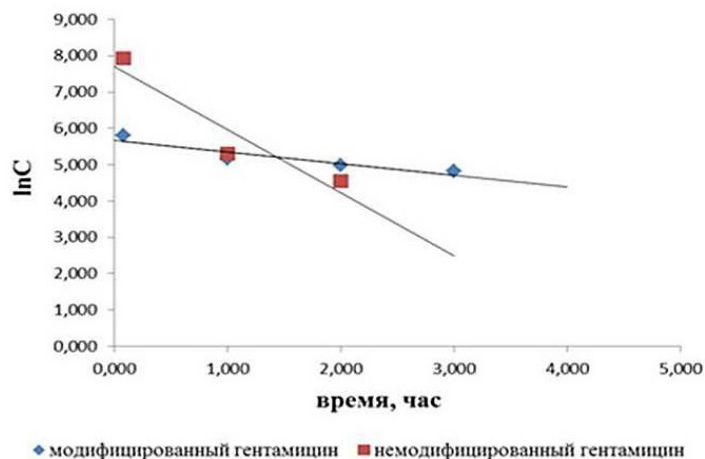


Рис. 2. График зависимости натурального логарифма концентрации гентамицина в сыворотке крови испытуемых животных до и после модификации

Для определения периода полувыведения модифицированного и немодифицированного гентамицина использовали уравнение $t_{1/2} = \ln(C_0/2)/k$, являющееся следствием уравнения (1), с учётом того, что $t_{1/2}$ – время, за которое концентрация препарата уменьшается в 2 раза. Результаты вычислений представлены в Таблице 3.

Таблица 3.

Показатели периода полувыведения гентамицина до и после модификации

Опыт	Уравнение модели	k, с ⁻¹	lnC ₀	t _{1/2} , ч	Статистика		Образец
					t _{1/2} ср, ч	стандартное отклонение	
Опыт 1 (кролик 1)	lnC = 5,648-0,321*t	0,321	5,648	25	25,5	0,707	После модификации
	lnC = 5,623-0,309*t	0,309	5,623	26			
Опыт 2 (кролик 2)	lnC = 5,711-0,285*t	0,285	5,711	29	28,5	0,707	
	lnC = 5,727-0,290*t	0,290	5,727	28			
Опыт 3 (кролик 3)	lnC = 5,676-0,305*t	0,305	5,676	26	26	0	
	lnC = 5,681-0,311*t	0,311	5,681	26			
Опыт 1 (кролик 1)	lnC = 7,719-1,740*t	1,740	7,719	6	6	0	До модификации
	lnC = 7,718-1,737*t	1,737	7,718	6			
Опыт 2 (кролик 2)	lnC = 7,730-1,588*t	1,588	7,730	7	7	0	
	lnC = 7,716-1,574*t	1,574	7,716	7			
Опыт 3 (кролик 3)	lnC = 7,723-1,653*t	1,653	7,723	7	7	0	
	lnC = 7,710-1,633*t	1,633	7,710	7			

Из литературных данных известно [3], что период полувыведения гентамицина из организма составляет 2-4 часа. По результатам эксперимента (Рис. 2, Табл. 3) период полувыведения модифицированного гентамицина составляет 27±1,768 часов, а немодифицированного гентамицина – 6,5±0,078. В качестве контроля использовали сыворотку крови до введения препарата. Таким образом, модификация гентамицина приводит к увеличению времени его циркуляции в организме реципиента.

Выводы:

1. модификация гентамицина приводит к увеличению времени его циркуляции в организме реципиента до 27±1,768 часов;
2. уровень антимикробной активности гентамицина после модификация сохраняется.

Список литературы

1. Варфоломеев С. Д., Гуревич К. Г. Биокинетика: практический курс. М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999. 720 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 5-ти ч. / Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Изд. 12-е. М., 2008. Ч. 1. 704 с.
3. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках: учебник. 6-е изд., перераб. и доп. М.: Наука, 2004. 528 с.
4. Коржавых Э. Лекарственные формы с модифицированным высвобождением и действием // Российские аптеки. 2003. № 4. С. 29-34.
5. Панарин Е. Ф., Нестеров В. В. Синтез и свойства сополимеров винилпирролидона с диацеталем акролеина // Высокомолекулярные соединения. 1978. Т. 20. № 1 (Б). С. 66-69.
6. Решедько Г. К. Значение ферментативной модификации аминогликозидов в развитии резистентности у бактерий // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 1999. Т. 1. № 1. С. 40-50.
7. Соловский М. В., Никольская Н. В. Соли антибиотика гентамицина с карбоксилсодержащим сополимером N-винилпирролидона // Химико-фармацевтический журнал. 2000. Т. 34. № 11. С. 21-24.
8. Технология лекарств: учебник для фармацевтических вузов и факультетов / пер. с укр.; под ред. А. И. Тихонова. Харьков: НФАУ, 2002. 704 с.
9. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств: в 2-х т. / под ред. И. М. Перцева, И. А. Зупанца. Харьков: УкрФА, 1999. Т. 1. 442 с.
10. Хананов Э. А., Мизина П. Г., Симакина А. А. Пролонгированные лекарственные формы как способ снижения негативных воздействий на человеческий организм // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009. Т. 11. № 1 (6). С. 1321-1323.
11. Хомяков К. П. Пролонгирование действия лекарственных препаратов путем использования их в смеси с полимерами или присоединения к полимерам // Успехи химии. 1964. Т. 33. № 9. С. 1051-1061.

ON CERTAIN CHARACTERISTICS OF MODIFIED GENTAMYCIN

Sasu Nursiya Vazikhovna
Udmurt State University
nursiya_valieva@mail.ru

Creation of long-acting pharmaceutical forms is a promising tendency in modern pharmacology. The realization of pharmaceutical forms with modified release in the area affected by a pathological process allows decreasing sharply undesirable body reactions to medicamental treatment, reducing the therapeutic doze of a medicine and the frequency of its injection. On the basis of the Department of Biochemistry and Biotechnology of the Faculty of Biology and Chemistry of the Udmurt State University they conducted experiments on gentamycin modification by vinylpyrrolidone copolymer with acrolein diacetal for the purpose of studying the antimicrobial and pharmacokinetic parameters of this conjugate.

Key words and phrases: antibiotics; polymers; modification; long-acting properties; antimicrobial activity; elimination half-life.

УДК 621.3; 37

Педагогические науки

Важной составляющей подготовки современных специалистов машиностроительного направления в цикле общепрофессиональных дисциплин государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования является курс «Электротехника и электроника». Одними из основных элементов аналоговых электронных устройств в настоящее время являются различные операционные усилители (ОУ) в интегральном исполнении, которые изучаются в этом курсе. В статье приведена методика проведения практического занятия по изучению характеристик и режимов работы ОУ в среде MULTISIM 10.1, которая позволяет студентам приобрести навыки в практическом применении этих устройств и углубить теоретические знания в данной области.

Ключевые слова и фразы: идеальный операционный усилитель (ОУ); реальный ОУ; коэффициент усиления; входное и выходное сопротивление; логарифмическая амплитудно-частотная характеристика; фазо-частотная характеристика; обратная отрицательная связь; схема включения ОУ; напряжение смещения; входной ток; активный четырехполюсник; среда Multisim10.1.

Соболев Владимир Афанасьевич, к.т.н.

Волченков Валерий Иванович, к.т.н., доцент

Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана
vasobolev@bmsu.ru

ИЗУЧЕНИЕ РЕЖИМОВ РАБОТЫ ОПЕРАЦИОННЫХ УСИЛИТЕЛЕЙ В СРЕДЕ MULTISIM 10.1

В настоящее время основными элементами аналоговой электроники являются интегральные схемы (ИС) как общего, так и специального применения: усилители напряжений и токов, компараторы, различные источники питания, преобразователи и генераторы аналоговых сигналов, активные фильтры и т.д. Основу работы многих ИС разного назначения составляет интегральный операционный усилитель (ОУ) [1].

Интегральное исполнение ОУ позволяет рассматривать его как отдельный элемент в электронной схеме подобно диоду, транзистору со своими параметрами. Несмотря на большое число публикаций, посвященных