ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

Қўлёзма ҳуқуқида

УДК 615.072/074:615.254.1:615.9:661.12

АЛИХОДЖАЕВА Мадина Ильясовна

ДИУРЕТИК ДОРИ ВОСИТАЛАРИНИ КИМЁ-ТОКСИКОЛОГИК ТАДҚИҚ ҚИЛИШ

15.00.02 - фармацевтик кимё ва фармакогнозия

Фармацевтика фанлари доктори
илмий даражасини олиш учун тақдим этилган диссертация
АВТОРЕФЕРАТИ

ТОШКЕНТ- 2009

Иш ЎзР ССВ Тошкент фармацевтика институтида бажарилди

Илмий маслаҳатчи: Россия таълим академиясининг академиги, фармацевтика фанлари доктори, профессор **Попков Владимир Андреевич**

Расмий оппонентлар: Фармацевтика фанлари доктори, профессор **Махатов Бауржан Калжанович**
доктор технических наук **Абдуллаев Шухрат Убайдуллаевич**
доктор химических наук, профессор **Ходжаев Омонулла Файзуллаевич**

Етакчи ташкилот: **Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги суд-тиббий экспертизаси Бош бюроси**

Ҳимоя Тошкент фармацевтика институти ҳузуридаги Д 087.12.01 рақамли кенгашнинг 2009 йил «___»_____ соат ____ да ўтадиган мажлисида бўлади. Манзил: 100015, Тошкент ш., Ойбек кўчаси, 45.

Диссертация билан Тошкент фармацевтика институти Ахборот ресурс марказида танишиш мумкин.

Автореферат 2009 йил «___»_____да тарқатилди.

Д 087.12.01 ихтисослашган кенгаш илмий котиби,
фармацевтика фанлари доктори, профессор **М.А. Тожиев**

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ УМУМИЙ ТАВСИФИ

Мавзунинг долзарблиги. Аҳолининг меҳнат қобилиятини йўқотиши, касаллик ва ўлим сабаблари қаторида кучли кимёвий заҳарланиш биринчи ўринда туради. Дори моддалари, наркотиклар ва алкоголь ўткир заҳарланишларнинг сабаблари ҳисобланади.

Беморларда дориларга нисбатан реакцияларни ривожланиши эътиборга молик бўлган умумтиббиёт муаммоларидан биридир. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти қошидаги дори-дармонлар реакцияларининг мониторинги Халқаро Марказининг маълумотларига кўра, инсониятнинг умумий сонидан 2-3% дори дармонлар истеъмол қилиши натижасида ҳосил бўладиган реакциялардан изтироб чекади.

Ножўя таъсирлар 5% ҳолатларда ўлимга сабаб бўлади, тиббиёт муассасаларида даволаниш даврида ҳар тўрт ўлим ҳолатларидан бири дори воситалар истеъмол қилиниши натижасида келиб чиқадиган турли патологик ўзгариш ва клиник таъсирлар асосида содир бўлади.

Кимё-токсикологик тахлилини амалга оширувчи, қонуний ҳужжатлар билан таъминланган ва яхши ташкил этилган аналитик хизмат жиноий жазоланувчи ҳаракатларни назорат қилиш ва кучли захарланиш ҳолларида тиббий ёрдам кўрсатиш, самарали диагностика қилиш ва беморларни даволаш имконини беради.

Диуретиклар кўп ишлатиладиган фармакологик гуруҳлардан бири ҳисобланади. Улар юрак етишмовчилигида, артериал гипертензияда, турли кўринишдаги шишларда, глаукома, қандсиз диабетда қўлланилади.

Синтетик пешоб ҳайдовчи дори воситалари терапевтик фаол таъсирларидан ташқари бир қатор ножўя таъсирларга ҳам эгадир. Диуретик воситаларни тиббиётда кенг қўлланилишига қарамасдан уларнинг токсикологик таъсирларининг намоён бўлиш ҳоллари (дозалари оширилган ва беморларнинг қабул қила олмаслик) учраб туради, шу турдаги воситалар билан ўткир ва сурункали равишдаги (айрим ҳолларда ўлимга олиб келган) заҳарланишлар адабиётларда келтирилган. Калий ионларининг организмдан кучли диурез натижасида чиқиб кетиши билан келиб чиқувчи гипокалиемия юрак, қон-томир тизимини ишининг ўзгаришига: юрак уришининг бузилишига, миокард некрозини ривожланишига, охир-оқибат миокард инфарктига олиб келади. Гипокалиемия гипергликомик комага олиб келиб, қандли диабетли беморларнинг глюкозага толерантлиги натижасида ўлим чақириши мумкин. Диуретик воситалар иштирокида, ҳамда организмдан калий ионларининг йўқотилиши юрак гликозидларининг токсик хусусиятларини оширади. Синтетик диуретикларни нотўғри қўллаш ва ўз-ўзини даволаш одамларнинг кўп заҳарланишига сабаб бўлган.

Замонавий илмий адабиётларда диуретикларни биологик табиатга эга бўлган объектлардан ажратишнинг мўтадил услубларини ишлаб чиқиш бўйича комплекс изланишлар ҳақида маълумотлар деярли йўқ. Диуретикларни чинлигини ва миқдорини аниқлаш бўйича кимё-токсикологик таҳлил учун яроқли текшириш услублари етарли даражада ишлаб

чиқилмаган, шунингдек, диуретикларни биологик ашёларда сақланиши ва бунга чириш жараёнининг таъсири ўрганилмаган. Шу сабабли синтетик диуретик доривор воситаларни кимё-токсикологик нуқтаи назардан ўрганилиши токсикологик кимёнинг долзарб муаммоларидан ҳисобланади.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Диссертация иши синтетик диуретик дори воситаларни тадқиқ этишга бағишланган биринчи тугалланган кимё-токсикологик илмий изланиш ҳисобланади.

Диссертация ишининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация иши Тошкент фармацевтика институти илмий-текшириш ишларининг режасига мувофиқ бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади. Диссертация ишнинг мақсади синтетик диуретик дори воситаларни фармацевтик ва кимё-токсикологик жиҳатдан тадқиқ этиш учун илмий асосланган йўналишларни ишлаб чиқиш ва Ўзбекистон Республикасининг соғлиқни сақлаш амалиётига татбиқ этишдир.

Тадқиқот вазифалари. Қўйилган мақсадга эришиш учун қуйидаги вазифаларни бажариш лозим бўлди:

- синтетик диуретик воситаларнинг амалдаги таҳлил усулларини танқидий ўрганиб чиқиш;
- замонавий физик-кимёвий таҳлил усулларидан фойдаланган ҳолда, диуретик воситаларнинг сифатини назорат қилишнинг амалдаги услубларини такомиллаштириш ва янги услубларни ишлаб чиқиш;
- республикамизда ишлаб чиқарилаётган фуросемиднинг амалдаги стандартлаш услубларини такомиллаштириш;
- ўрганилаётган синтетик диуретиклар ва уларнинг комбинацияланган препаратларини биологик объектлардан ажратиб олишнинг янги услубларини ишлаб чиқиш;
- биологик объектлардан олинган ажралмаларни тозалаш услубларини ишлаб чиқиш;
- биологик объект ва суюқликлардан диуретик дори воситаларини топиш ва уларнинг миқдорини аниқлашнинг янги услубларини ишлаб чиқиш;
- тадқиқ этилаётган диуретик дори воситаларини заҳарланган лаборатория ҳайвонларининг ички аъзоларида тарқалишини ўрганиш;
- биологик объектлардан ажратиб олинган диуретик дори воситаларининг метаболитларини идентификациялаш услубларини ишлаб чиқиш;
- диуретикларни биологик объектда сақланишини ва бу жараёнга консервантнинг таъсирини ўрганиш;
- ўткир заҳарланишда биологик суюқликларда (қон, пешоб) тадқиқот қилинаётган синтетик диуретиклар борлигини аниқлаш бўйича экспресс-таҳлилнинг амалдаги услубларини такомиллаштириш ва янги услубларни ишлаб чиқиш;
- ўтказилган тадқиқотлар натижаларини ва ишлаб чиқилган таҳлил услубларини ЎзР суд-тиббиёт экспертизаси Бош Бюросининг кимё бўлимларига, ҳамда дори воситаларининг стандартлаштириш ва сифатини назорат қилиш лабораториялари амалиётида қўллаб кўриш ва татбиқ қилиш;

Тадқиқот объекти ва предмети. Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2005 йил 29 декабрь 643-сонли буйруғи билан тасдиқланган, ҳаётий зарур бўлган дори воситалари рўйхатига киритилган ва амалиётда кенг қўлланиладиган диуретиклар - ацетазоламид, гидрохлортиазид, фуросемид, этакрин кислота, спиронолактон ва комбинациядаги дори воситалари – адельфан-эзидрекс ва триампур-композитум тадқиқот объектлари сифатида қўлланилди. Тадқиқот предмети бўлиб ҳайвонлардан олинган биологик объектлар ва ашёлар, шунингдек, беморларнинг қони ва пешоби ҳисобланади.

Тадқиқот методлари. Синтетик диуретик дори воситаларини тизимли ва комплекс аналитик ва кимё-токсикологик тадқиқ этиш юпқа қатлам, газ-суюқлик, юқори самарали суюқлик хроматографияси, газ-хромато-масс-спектрометрияси, ИК- ва УБ-спектрофотометрияси, масс ва ЯМР-спектроскопияси, термодесорбцион сирт-ионизация спектроскопияси, газ-хромато-масс-спектрометрия, термик усуллар ёрдамида амалга оширилди.

Ҳимояга олиб чиқилаётган асосий ҳолатлар. Ҳимояга олиб чиқилади:

- турли объектларда диуретик дори воситаларини аниқлашнинг ишлаб чиқилган комплекс ва услубий ёндошуви;
- диуретикларни субстанция ва дори воситаларида сифатини назорат қилиш ва стандартлашнинг самарали, модификацияланган услубларини ишлаб чиқиш бўйича тадқиқот натижалари;
- тадқиқот қилинаётган диуретикларни замонавий юқори самарали таҳлил усуллари ёрдамида сифат ва миқдорий аниқлашнинг ишлаб чиқилган мўътадил услублари;
- сувли муҳит ва биологик объектлардан тадқиқот қилинаётган диуретикларни экстракция қилиш услубларини ишлаб чиқиш натижалари;
- тадқиқот қилинаётган диуретикларни заҳарланган лаборатория ҳайвонлари аъзоларида тарқалиши, йиғилиши, ҳамда сақланишини ўрганиш бўйича ўтказилган тажрибалар натижалари;
- одам организмида диуретикларнинг парчаланиш йўлларини истиқболда кўриш натижалари;
- биологик объектлардан ажратиб олинган, тадқиқот қилинаётган диуретик дори воситалари метаболитларини идентификация қилиш услубларини ишлаб чиқиш натижалари;
- тадқиқот қилинаётган синтетик диуретикларни биологик суюқликлардан (қон, пешоб) аниқлашнинг янги экспресс-таҳлил услубларини ишлаб чиқиш ва мавжудларини такомиллаштириш бўйича ўтказилган тадқиқотлар натижалари.

Илмий янгилиги. Комплекс физик-кимёвий тадқиқот қилиш асосида кенг кўламда қўлланиладиган синтетик диуретик дори воситаларини: ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва комбинациядаги препаратлар – триампур композитум ва адельфан-эзидрексларни кимё-токсикологик ўрганишга биринчи марта илмий-услубий ёндошув таклиф қилинди.

Ўрганилаётган диуретикларни дори воситалари, биологик суюқликлар ва объектлар таркибидан ҳар томонлама ва изчил тадқиқотлари олиб борилди. Юпқа қатлам, газ-суюқлик, юқори самарали суюқлик хроматографияси, газ-хромато-масс-спектрометрияси, ИК- ва УБ-спектрофотометрияси, масс ва ЯМР-спектроскопияси, термодесорбцион сирт-ионизация спектроскопияси усуллари ёрдамида таҳлил этишнинг янги услублари ишлаб чиқилди ва мавжудлари такомиллаштирилди. Диуретик дори воситалари ва уларнинг метаболитларини биологик объектлардан ажратиб олиш, сифат ва миқдорини аниқлашнинг услублари илмий ва амалий асосланди.

Тадқиқ қилинаётган диуретик дори воситаларини биологик суюқликларда (қон ва пешоб) аниқлашнинг тезкор усули ишлаб чиқилди. Ишлаб чиқилган услублар юрак етишмовчилигига дучор бўлган касалларининг диуретик қабул қилгандаги қон ва пешоб тахлилларида синовдан ўтказилди.

Экспериментал заҳарланган лаборатория ҳайвонлари ички аъзолари ва биологик суюқликларида тадқиқ қилинаётган диуретикларнинг тарқалиши ва тўпланиши биринчи марта ўрганилди, ҳамда биологик ашёларда уларнинг сақланиш муддатлари, бу жараёнга қўшилган консервантнинг таъсири аниқланди.

Термодинамик усуллар ёрдамида биологик ашёларда тадқиқ қилинаётган диуретикларнинг парчаланиш йўналиши назарий жиҳатдан истикболда курилди ва парчаланиш маҳсулотлари газ-хромато-масс-спектрометрияси усули ёрдамида аниқланди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Биологик табиатга эга бўлган объектларда тадқиқот қилинаётган диуретикларни ажратиб олиш ва аниқлашнинг янги замонавий, юқори сезгир ва аниқ услублари ишлаб чиқилди.

Одамларни ўткир заҳарланишларида тадқиқ қилинаётган диуретикларни дори воситалари ва биологик суюқликларда аниқлаш услуби ишлаб чиқилиб, суд-кимё тадқиқоти амалиётига татбиқ этилди. Ишлаб чиқилган таҳлил услублари женерик препаратларнинг биоэквивалентлигини аниклаш буйича фармакокинетик ва клиник тадқиқотларда, ҳамда дозалашнинг мўтадил тизимини аниқлашда ишлатилиши мумкин.

«Чинлиги», «Ўхшаш моддалар (тозалиги)» ва «Миқдорий таҳлил» каби фармакопея кўрсаткичларини аниқлаш мақсадида дори воситалари таркибидаги фуросемид ва унинг ёт моддаси - 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотанинг таҳлил услублари унификация қилинди

Натижаларнинг жорий қилиниши. Ўтказилган тадқиқотларнинг натижалари асосида қуйидаги услубий тавсияномалар тайёрланди ва ЎзР ССВ томонидан тасдиқланди: «Гидрохлортиазидни дори препаратлари ва биологик объектларда аниқлаш» (28.11.06й.), «Фуросемид ва 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотани биологик объектларда аниқлаш» (28.12.06й.), «Ацетазоламидни биологик объектларда аниклаш» ва «Этакрин кислотани биологик объектларда аниқлаш» (30.03.08й.). Услубий тавсияномалар ЎзР ССВ Суд-тиббий экспертизаси Бош Бюроси ва вилоятлар суд-тиббий

экспертизаси бюролари кимё бўлимлари, шунингдек, дори воситалари сифатини назорат қилиш ва стандартлаш билан шуғулланувчи лабораториялар амалиётига татбиқ этиш учун юборилди.

Ацетазоламид, фуросемид, гидрохлортиазид, этакрин кислотани биологик объектларда аниқлашнинг ишлаб чиқилган юпқа қатлам хроматография, УБ-спектрофотометрия ва юқори самарали суюқлик хроматография услублари Тошкент фармацевтика институти токсикологик кимё кафедрасида “Дори воситалари сифатини физик-кимёвий усуллар ёрдамида аниқлаш” фани бўйича, хамда Россия халқлар дўстлиги университетининг фармацевтик ва токсикологик кимё кафедраси ўқув жараёнига татбиқ этилди.

Тадқиқотлар натижаси бўйича «Айрим диуретик дори воситаларини физик-кимёвий ва кимё-токсикологик тадқиқотлари» мавзусида илмий монография чоп этилди.

Ишнинг синовдан ўтиши (апробацияси). Диссертация ишининг асосий натижалари қуйидаги илмий анжуманларда муҳокама қилинган: Тошкент фармацевтика институтининг «Фармацияда таълим, фан ва ишлаб чиқариш интеграцияси» мавзусидаги илмий –амалий анжуманида (Тошкент, 2005, 2007 ва 2008 й.); «Табиий хом ашёлар асосида дори воситаларининг олиниши, таҳлили ва қўлланилишидаги ютуқлар» мавзусидаги Республика илмий амалий анжуманида (Тошкент, 2006), “Инсон ва дори” XI, XIII, XIV Россия миллий анжуманида (Москва, 2004, 2006, 2007), «Суд-тиббиёт экспертизаси ва криминалистикани замонавий аспектлари» мавзуда Тошкент педиатрия тиббиёт институти илмий-амалий анжуманида (Тошкент, 2006 й.), Ўзбекистон Республикаси Адлия вазирлиги суд-экспертиза хизматининг 55 йиллигига бағишланган Республика идоралараро илмий-амалий анжуманида (Тошкент, 2006 й.), Россия Федерациясининг СТЭ Республика Бюроси суд-кимёгар экспертларнинг йиғилишида (Москва, 2008), шунингдек, Тошкент фармацевтика институти (2008 йил 9 сентябрдаги 1-сон баённома), ЎзР ССВ қошидаги Дори воситалар стандартизацияси ва экспертизаси Давлат Марказининг кенгайтирилган илмий кенгаши (2008 йил 21 октябрдаги 6-сон баённома), Ўзбекистон Республикаси ФА Биоорганик кимё институти (2008 йил 27 октябрдаги 01-сон баённома) илмий семинарларида.

Натижаларнинг эълон қилинганлиги. Диссертация иши бўйича илмий монография, 17 мақола, 19 тезис, 5 услубий тавсияномалар чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация иши 250 саҳифада компьютер текстида баён этилган бўлиб, 66 жадвал ва 60 расмни ўз ичига олади. Диссертация кириш, адабиётлар шарҳи, беш бобдан иборат тажрибалар қисми, хулосалар, адабиётлар рўйхати ва иловалардан ташкил топган. Адабиётлар рўйхати 310 манбадан иборат.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Тадқиқот объектлари- диуретик дори воситалари – ацетазоламид, гидрохлортиазид, фуросемид, этакрин кислота, диуретиклар сақлаган мураккаб дори препаратлари: триампур композитум ва адельфан-эзидрекс.

Хроматографик таҳлиллар “Hewlett Packard” (АКШ) корхонасининг SP-8000 моделли диод-матрица детекторли 1040 ускунаси ёрдамида ўтказилиб, олинган натижалар HP-9000 компьютерида қайта ишланди; LKB (Швеция). “Agilent Technologies” корхонасининг Agilent 1100 Series модели, ўзгарувчан тўлқин узунлигига эга спектрофотометрик детектори ва Reodyne туридаги инжекторга эга бўлган ускунадан фойдаланилди. Қўзғалмас фаза сифатида Lichrosorb RP-18 ва Zorbax Eclipse XDB C-18 сорбентлар сақлаган колонкалар ишлатилди.

Диуретик дори воситаларини ва биологик объектлардан ажратиб олинган намуналарнинг ИҚ-спектрлари 400-4000 $см^{-1}$ тўлқин узунлик диапазонида калий бромидли таблеткаларда Specord IR-75 ва “Nicolet Insrument Corp.”(США) фирмасининг AVATAR 360 спектрофотометрларида олинди.

УБ-спектрлар 200-400 нм тўлқин узунлиги оралиғида, 1 смли кварц кюветада Agilent Technologies 8453 ва Beckman DU-65 спектрофотометрларда олинди.

Масс-спектрометрик таҳлиллар 100-170°С ҳароратда ва ион манбаининг энергияси 60-70 эВ бўлган ҳолда МХ-1303 масс-спектрометрда ўтказилди.

Фуросемиднинг 2% дейтерийланган диметилсульфоксиддаги эритмасининг $ЯМР^{1}Н$ спектрлари Брукер (Германия) корхонасининг WH-90 спектрометрида, ишчи частотаси 90 МГц, 30°С ҳароратда олинган. Кимёвий силжишларнинг ички стандарти сифатида тетраметилсилан ишлатилди.

Термик тадқиқотлар Паулик- Паулик-Эрдей тизимидаги дериватографда олиб борилди.

Газ-суюқлик хроматография усулидаги тадқиқотлар Кристалл-2000 хроматографида амалга оширилди. Бунда SE-30 билан қопланган фазали капилляр колонка, газ ташувчи сифатида азот, электрон ушловчи типидаги детектор қўлланилди.

Дори воситаларини газ-хромато-масс-спектрометрик усулда таҳлил қилиш учун “Agilent Technologies” корхонасининг 5973N-6890N (АҚШ) моделидаги хромато-масс-спетрометр HP-5MS (30 м х 0,25мм) колонка билан таъминланган асбобидан фойдаланилди.

Баъзи диуретик дори воситаларини таҳлил этишнинг янги услубларини ишлаб чиқиш ва мавжудларини такомиллаштириш

Диуретик дори воситаларини объектлар таркибида қисқа вақт оралиғида сифат ва миқдорий таҳлили вазифасини амалга оширишда бир-бирини тўлдирувчи ва тасдиқловчи замонавий физик-кимёвий усуллардан фойдаланиш мақсадга мувофиқ.

Адабиётларда келтирилган маълумотларни танқидий ўрганиш асосида ацетазоламид, гидрохлортиазид, фуросемид, этакрин кислотаси,

спиронолактон ҳамда комбинациядаги препаратлар триампур композитум ва адельфан-эзидрексни суд-кимёвий ва кимё-токсикологик объектларда аниқлашда қўл келадиган мўтадил таҳлил услублари ишлаб чиқилди.

Кимё-токсикологик текширувларда юпқа қатлам хроматография усуллари барча таҳлил усуллари ичида асосий ўринни эгаллайди. Усулнинг устунлиги уни оддий бажаришлиги, тезкорлиги, пластинкадаги битта доғда моддани тўплаш ҳамда гуруҳ моддаларини аниқлашда турли реактивларни қўллаш имконияти мавжудлиги ҳисобланади.

Шуларни хисобга олиб, ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва унинг метаболити 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотани биологик объектларда аниқлашнинг юпқа қатлам хроматографик аниқлаш услуби ишлаб чиқилди.

Тадқиқот қилинаётган дори моддасининг ажратишнинг мўътадил шароитларини танлашда турли сорбентларда ва адабиётда келтирилган, ҳамда модификация қилинган қатор қўзгалувчи фазалар ишлатиб, уларнинг хроматографик жараёнлари ўрганилди.

Бажарилган тадқиқотлар асосида ўрганилаётган диуретик воситаларни аниқлаш учун кўриб чиқилган хроматографик пластинкалардан энг мўътадил деб Silufol -254 ва «Merck» фирмасининг пластинкалари олинди.

Хроматографик пластинкалардаги диуретикларнинг жойлашиш зоналарини қайд этиш учун қатор реагентлар қўлланилди. Улар орасидан диуретик дори воситаларини пластинкадаги ўрнини очувчи энг яхши реагент сифатида аввало 254 нм тўлқин узунлигида УБ нури, ҳамда гидрохлортиазид учун симоб (II) сульфат эритмаси ва дифенилкарбазид реактиви, фуросемид учун – темир (III) хлорид эритмаси, ацетазоламид учун – Мунье бўйича модификацияланган Драгендорф реактиви, этакрин кислотаси учун 0,5% калий перманганат эритмаси, спиронолактон учун фосфор-молибден кислотасининг 1% ацетонли эритмаси танланди.

1-жадвал

Диуретик дори моддаларининг Rf қийматлари

Текширилувчи моддалар	Rf қийматлари					
	I	II	III	IV	V	VI
Ацетазоламид	0,74	0,33	0,72	0,30	0,55	0,27
Гидрохлортиазид	0,65	0,22	0,24	0,23	0,50	0,20
Этакрин кислота	0,31	0,62	0,66	0,50	0,35	0,58
Триамтерен	0,42	0,02	0,12	0,08	0,05	0,02
Фуросемид	0,43	0,55	0,43	0,68	0,28	0,50
Спиронолактон	0,95	0,83	0,87	0,84	0,77	0,64
I – хлороформ-этанол (4:1), II – бензол-2-пропанол (4:1), III–хлороформ-бензол-2-пропанол (2:4:1)		IV – хлороформ-этилацетат-2-пропанол (10:5:1), V – ацетон-гексан-бензол (5:2:3), VI - бензол-ацетон-гексан- конц. сирка кислота (25:10:5:1).				

Дозанинг ошиб кетиши туфайли ўлимга сабаб бўлувчи заҳарланиш ҳолларида заҳарли модданинг дозаси юқори бўлганда ЮКХ-скрининг

текширув учун энг маъқул усул ҳисобланади. 1-жадвалда диуретик дори моддаларини ЮҚХ –скрининг таҳлили учун энг самарали эритувчилар системаси келтирилган.

Диуретик дори воситаларини хроматографик скрининг таҳлили учун эритувчилар системаси сифатида хлороформ-бензол-2-пропанол (2:4:1) ва хлороформ-этилацетат-2-пропанол (10:5:1), ҳамда умумий очувчи реагент қилиб УБ-нури билан симоб (II) сульфат эритмаси ва дифенилкарбазид реактиви, хамда фосфор-молибден кислотасининг 1% ацетонли эритмаси тавсия этилди.

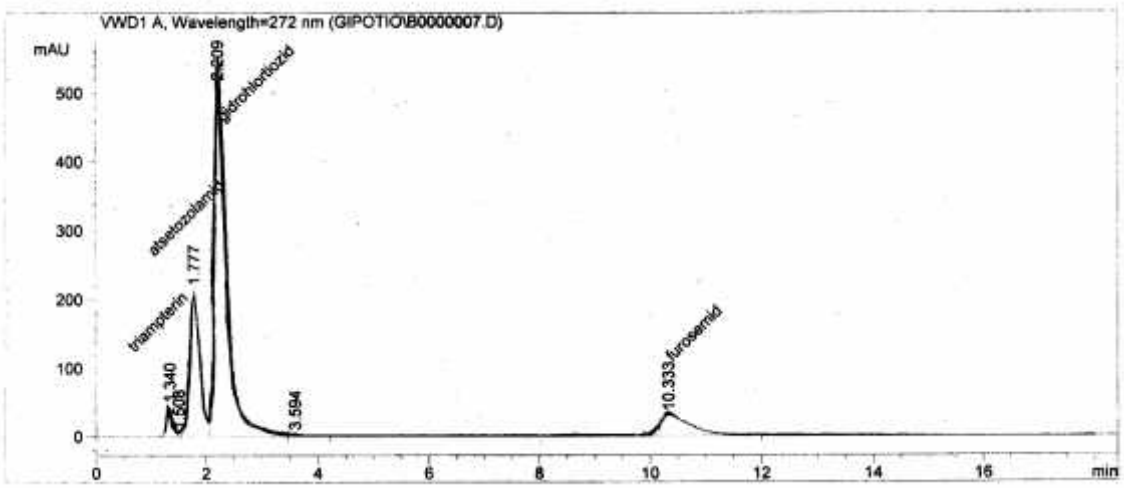
Юкори самарали суюклик хроматография (ЮССХ) усулининг дори воситалари сифатини назорат қилувчи ва кимё-токсикологик лабораториялар амалиётида кенг қўлланилишини ҳисобга олиб, текширилувчи диуретик дори воситаларининг таҳлили учун унификацияланган услуб ишлаб чиқилди.

Детекциялаш 272 нм тўлқин узунлигида олиб борилди. Zorbax Eclipse XDB C-18 сорбенти (3,5 мкм) билан тўлдирилган хроматографик колонкадан (4,6х250 мм) фойдаланилди. Бунда қўзғалувчи фаза сифатида ацетонитрил ва сирка кислотанинг 1% эритмасининг газсизлантирилган аралашмаси (30:70) қўлланилди. Элюент оқимининг тезлиги 0,75 мл/мин ташкил этди, колонканинг ҳарорати хона ҳароратига тенг.

Таҳлил юқоридаги шароитларни қўллаган ҳолда изократик тартибда олиб борилди. Ацетазоламид, гидрохлортиазид, триамтерен, фуросемид ва этакрин кислоталарнинг чинлигини стандарт ва текширилувчи намуналарнинг ушланиш вақтларини солиштириш орқали амалга оширилди. Колонканинг ажратиш хусусиятини дастлабки баҳолаш текширилувчи моддаларнинг модель аралашмасида ўрганилди. Таҳлил қилинаётган диуретикларнинг аниқ тортмалари (10 мгдан) аралашмаси 10 мл ацетонитрил ва сирка кислотанинг 1% эритмалари аралашмасида (30:70) эритилди. Бунда ҳар бир компонент концентрацияси 1 мкг/млни ташкил этди.

Хроматографиялаш натижасида модель аралашмадаги моддаларни сифат таҳлили учун мўтадил шароитлари танланди ва бунда диуретикларнинг ушланиш вақтлари қуйидаги кўрсаткичларга эга бўлди: триамтерен – 1,34 мин, ацетазоламид – 1,77 мин, гидрохлортиазид – 2,2 мин, фуросемид – 10,3 мин ва этакрин кислота – 63,2 мин (1-расм). Бу шароитда этакрин кислота узоқроқ ушланиш вақтга (63,2 мин) эга бўлганлиги сабабли, қўзғалувчи фазадаги аралашманинг ацетонитрил ва 1% ли сирка кислота эритмаси нисбатини (45:55) ўзгартириб, унинг учун бошқа услуб ишлаб чиқилди. Бу шароитда этакрин кислота 6,1 мин ушланиш вақтига эга бўлди.

Ўтказилган дастлабки тажрибалар ЮССХ усулини адельфан-эзидрекс ва триампур-композитум каби мураккаб препаратлар таркибидаги гидрохлортиазидни миқдорий таҳлили учун қўллашга имкон берди. Гидрохлортиазидни миқдорий баҳолаш абсолют калибрлаш усулида бажарилди. Тажрибалар натижаси дори воситаларидаги гидрохлортиазид миқдори ўртача 97,8-105,5% эканлигини кўрсатди.



1-расм. Диуретикларнинг модел аралашмасининг хроматограммаси: триамтерен, ацетазоламид, гидрохлортиазид, фуросемид

Биологик объектлардан ажратиб олинган ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва уларнинг метаболитларини чинлигини аниқлаб, тузилишини тасдиқлаш мақсадида диуретик дори воситаларининг сифат таҳлил услублари ИК- ва УБ-спектрофотометрик, масс- ва ЯМР- спектрометрик усуллари ёрдамида ишлаб чиқилди. Диуретик дори воситаларидаги аниқ функционал гуруҳларнинг характеристик частоталари бўйича идентификациялаш 2-жадвалда келтирилган.

2-жадвал

Ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислоталарнинг ИК-спектрларидаги айрим тебраниш частоталари

Моддалар	Тебраниш тури ($см^{-1}$)								
	ν (NH_2)	ν (NH)	ν (CH_2) (CH)	ν (C=O) (OCOH)	δ (NH_2)	ν (C=C)	ν (C─O)	ν (SO_2) (C-S)	ν (C-Cl)
Ацетазоламид	3355 3365	3260		1682	1553	-	-	1128	
Гидрохлортиазид	3364 3394	3270	2852	-	1550	1603	-	1166 1151	675
Этакрин кислота	-	-	2860 2870	1658 1737	-	1583	1249	-	772
Фуросемид	3430 3370	3310	2890 2830	1680	1595	1560	1250 ν (фуран) 1035 890	1130	735
4-хлор-5-сульфамоил-антранил кислота	3500	-	-	1685	1620		1250	1148	733
Спиронолактон	-	-	2863 2950	1767 1687	-	1620	1266 1187	1138 1117	-

УБ-спектрофотометрия оддий, арзон аналитик усул бўлиб, тўғридан-тўғри, қўшимча реакцияларсиз алоҳида моддаларни таҳлил қилишда нисбатан қулай ҳисобланади. Текширилувчи модданинг УБ-спектрида максимал ютилишга эга бўлиши дастлабки идентификациялашда қўл келади.

Шуларни ҳисобга олиб, ўрганилаётган диуретикларни ва уларнинг комбинациядаги препаратларидан аделфан-эзидрекс ва триампур композитумни биологик объектларда аниқлаш учун спектрофотометрик таҳлил услублари ишлаб чиқилди.

Ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотанинг УБ-спектрофотометрик усулда идентификация қилиш учун уларнинг этанолли эритмаларидан фойдаланилди. 200-400 нм тўлқин узунлиги оралиғида оптик зичликлар ўлчанганда ацетазоламид, спиронолактон ва этакрин кислота эритмаларида, мос равишда 264, 238 ва 278 нмда битта максимум, гидрохлортиазид ва фуросемид эритмаларида, мос равишда 227, 272, 317 нм ва 225, 274, 335 нм учтадан максимум нур ютиш соҳалари кузатилди. Олинган натижалар биологик объект ва суюқликлардан ажратиб олинган тадқиқ қилинаётган диуретикларни идентификация қилишда қўлланилди.

Биологик суюқликлардаги дори воситаларининг миқдорини УБ спектрофотометрик усулда аниқлаш ҳозирги вақтда илмий-текшириш ва клиник лабораторияларда кенг қўлланилмоқда. Шу муносабат билан услубни ишлаб чиқиш учун стандарт намуналардан эритмалар тайёрланиб, уларнинг оптик зичликлари ҳар бир алоҳида олинган модда учун характерли $\lambda_{мах}$ тўлқин узунликларида ўлчанди. Ўлчаш натижалари бўйича диуретик дори воситаларининг миқдорини аниқлаш учун калибрлаш чизмалари тузилди.

Тадқиқот натижалари 3-жадвалда келтирилган.

3-жадвал

Диуретиклар ва уларнинг комбинациядаги дори воситаларининг УБ-спектрофотометрик усулда асосий кўрсаткичларини аниқлаш натижалари

Текширилувчи модда	Эритувчи	$\lambda_{мах}$	$E_{1см}^{1\%}$	ε	Аниқлаш диапазони, мкг/мл
Ацетазоламид	этанол	264	194,0	4310,7	5,0-50,0
Гидрохлортиазид	этанол	272	386,0	11491,0	2,5-25,0
Фуросемид	этанол	274	680,0	22494,0	1,0-16,0
4-хлор-5-сульфамоил-антранил кислота	этанол	267	640,0	16064,0	2,0-20,0
Этакрин кислота	этанол	278	112,0	3393,6	10,0-100,0
Триамтерен	сув	270	253,0	6408,5	5,0-25,0
Резерпин	этанол	265	292,0	17228,0	0,5-7,0
Дигидралазин сульфат	сув	220	1596,0	45796,0	3,0-32,0
Спиронолактон	этанол	238	465,0	19395,0	2,0-20,0

3-жадвалда келтирилган натижалар диуретикларни спектрофотометрик усулда аниқлашнинг ишлаб чиқилган услуби етарли даражада сезгирлигидан далолат беради.

Таҳлилнинг физик-кимёвий усуллари жуда сезгир, нисбатан қуйи аниқлаш чегарасига эга ва шубҳасиз классик кимёвий усулларга нисбатан самаралироқдир. Фуросемид чинлигини аниқлаш учун ЯМР^{1}Н – спектроскопия таҳлили амалга оширилди. Бунда препаратнинг спектрида кимёвий силжиши, мультиплетлар кўриниши ва спин-спинли таъсирланиш кўрсаткичлари асосида, ҳамда 4-хлор-5сульфамоилантранил кислотани модел намунасининг спектри билан таққослаб аниқланди.

Фуросемид спектрида δ 8,61 м.д. да NH- гуруҳ спин-спинли таъсир константаси 5,9 Гц га тенг бўлган триплети кузатилди. Н-6 ва Н-3 протонларнинг сигналлари спектрнинг δ 8,40 ва 7,06 м.д. да тегишлича, NH_2 гуруҳ протонларининг кенгайган сигнали эса δ 7,31 м.д. да қайд этилди. 4-хлор-5сульфамоилантранил кислотанинг спектрида Н-6, NH_2-гуруҳи ва Н-3 протонларининг сигналлари тегишлича δ 8,32; 7,26 ва 6,95 м.д. да қайд этилди.

Фуросемид спектрида келтирилган сигналлар ушбу моддани ЯМР^{1}Н спектроскопия усулида чинлигини ишончли аниқлашга имкон беради.

Ҳозирги вақтда масс-спектрометрик усул нисбатан информатив ва ҳаммабоп аналитик усул бўлиб, турли моддаларнинг шу жумладан, дори воситалари таҳлилида кенг қўлланилади.

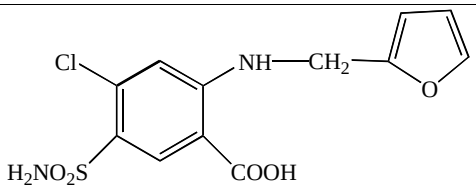
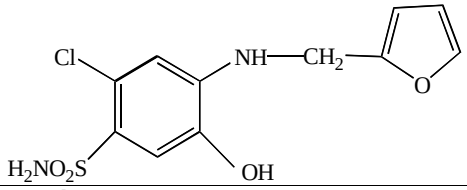
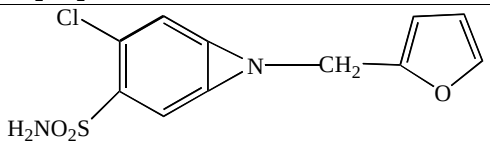
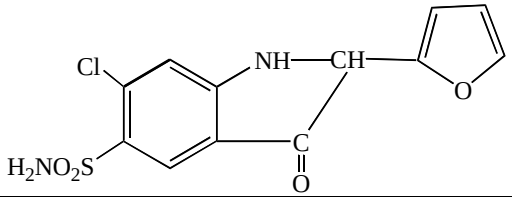
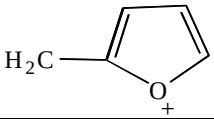
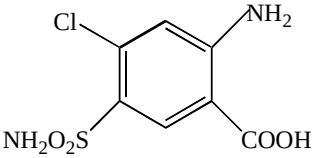
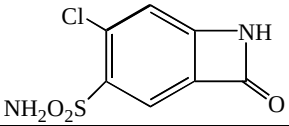
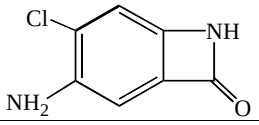
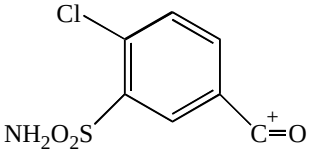
Фуросемид ва 4-хлор-5сульфамоилантранил кислотанинг фрагментланишини батафсил ўрганиш учун бу моддаларнинг масс-спектрлари 100-170°С ҳароратда, ионланиш манбаининг энергияси 60-70 эВ қилиб олинди. Фуросемид масс-спектри учун m/z 286 молекуляр иондан карбоксил гуруҳининг ажралишидан келиб чиққан ион характерли ҳисобланади. Фуросемид масс-спектрида энг интенсив ион m/z 330/332 M^+ (100%) бўлса, фурил метил радикали асосий фрагментлардан бири эканлиги кузатилди. Сув молекуласининг чиқиб кетиши орқали m/z 312/314 ион ҳосил бўлади. Молекуляр иондан ОН ва СНО гуруҳларнинг узилишидан m/z 284/286 ион келиб чиқади.

4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота масс-спектрида нисбатан интенсивроқ m/z 232/234 ион бўлиб, у молекуляр иондан m/z 250/252 (77%) сувнинг чиқиб кетишига жавоб беради. Углерод (II) оксидининг ажралиши эса m/z 206/208 ионни беради. Ион m/z 186/188 нинг ҳосил бўлиши молекуляр иондан олтингугурт (II) оксидининг чиқиб кетишига асосланган. Сув молекуласи ва олтингугурт (II) оксидининг ажралиши натижасида m/z 168/170 ион хосил булади. m/z 186/188 иондан углерод (II) оксидининг ажралиши орқали m/z 142/144 ион-радикал ҳосил бўлади.

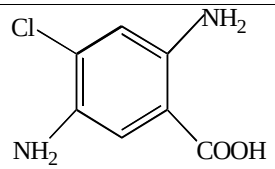
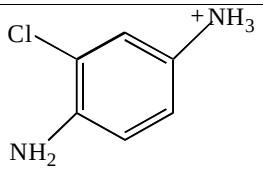
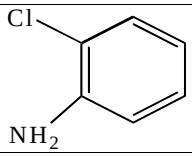
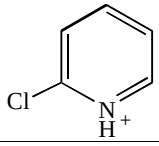
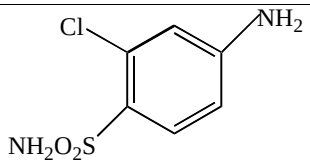
Фуросемид ва 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотасининг масс-спектрдаги асосий бўлак ионлар ва уларнинг интенсивлиги 4-жадвалда келтирилган. Бу услуб биологик объектдан ажратиб олинган моддаларни чинлигини аниқлашда қўл келади.

4-жадвал

Фуросемид ва 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотасидаги асосий бўлак ионлар ва уларнинг интенсивлиги

Тузилиш формуласи	M/z	Чўққиларнинг нисбий интенсивлиги, %
1	2	3
	Фуросемид 330/ 332	100
	302/ 304	5
	284/ 286	7
	312/ 314	9
	81	98
	4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота 250/252	77
	232/ 234	100
	168/ 170	17
	153/ 155	18

Жадвалнинг давоми

	186/ 188	17
	142/ 144	15
	126/ 128	10
	114/ 116	12
	206/ 208	10

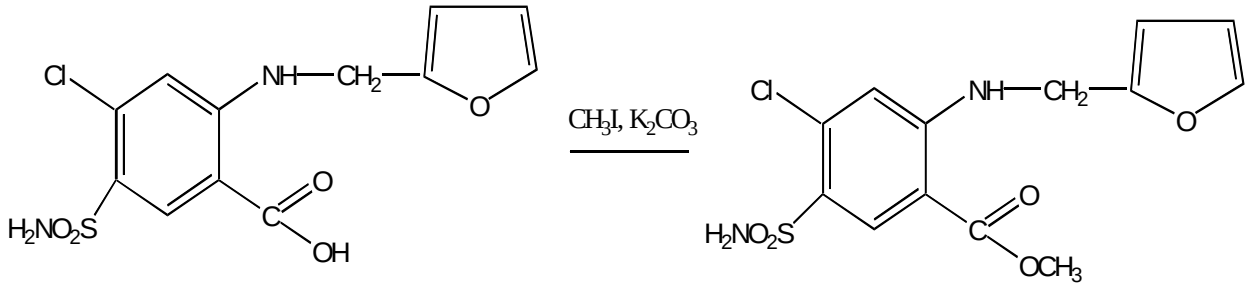
Масс-спектрометрия усули хроматографик усуллар билан биргаликда кимё-токсикологик таҳлилда арбитраж усули сифатида асосий ўринни эгаллайди. Бунда номаълум моддаларни чинлигини ва миқдорини турли концентрацияларда аниқлаш имконини беради.

Газ хроматографик усулда эркин карбоксил гуруҳига эга диуретиклар ўзининг қутблилиги ва ҳароратга бардошсизлиги туфайли ёмон ажралади.
Кимё-токсикологик таҳлилда кўпинча турли токсикантларни ажратиб, концентрлаб тахлил қилиш учун уларнинг аналитик кўрсаткичларини яхшилаш мақсадида текширилувчи моддаларнинг хусусиятлари ўзгартириш талаб этилади. Дериватизация айниқса, учувчан бўлмаган, қутбли моддаларни хроматографик ажратади, тахлил сезгирлигини ошириб, ҳамда аниклаш чегарасини яхшилайди.

Тадқиқ этилган диуретик дори моддаларининг (ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон ва фуросемид) учувчанлигини ва ҳароратга чидамлилигини ошириш учун уларни карбоксил гуруҳлари бўйича метил ҳосилаларига ўтказиш лозим.

ГСХ усулида таҳлил қилиш учун метиллаш қуйидаги тартибда амалга оширилди: 0,001 г препаратни 100 мкл сувсиз ацетонитрилда эритилди. Устига 10 мг калий карбонат, 10 мкл метил йодид қўшилди. Шиша идиш маҳкам ёпилиб, 60°С ҳароратда 1 соат давомида қиздирилди. Сўнгра юқори қатлам қуйиб олинди ва олинган эритма бевосита газ-суюқлик хроматографияси учун ишлатилди.

Фуросемиднинг метил ҳосиласини олиш реакцияси қуйидагича:



Метилланган фуросемид кимёвий тузилишини тасдиқлаш учун ИҚ- ва масс-спектрлари олинди. Олинган ИҚ-спектрда фуросемиднинг гидроксил гуруҳига (ОН) хос 1400 $см^{-1}$даги ютилиш чизиқлари йўқолди ва мураккаб эфир С – О гуруҳига характерли 1250 $см^{-1}$ соҳадаги ютилиш бўлди. Бу эса фуросемиднинг метил ҳосиласи эканлигини тасдиқлайди. Метил эфиридаги карбоксил гуруҳи юқори частотали соҳага 50 $см^{-1}$ сурилган бўлиб, ν CO фуросемиднинг метил эфири учун 1697 $см^{-1}$ ни ташкил этди.

Фуросемиднинг метил эфири масс-спектри m/z 344/346 молекуляр ионига эга бўлиши билан характерли. Метил радикалининг узилишидан m/z 229/231 ион ҳосил бўлади. m/z 313/315 ион чўққиси метоксил қолдиғини чиқишига асосланган. Қолган фрагментланиш фуросемиднинг ўзини парчаланишига ўхшаб кетади.

Маълумки, фуросемиднинг асосий ёт моддалари, жумладан, 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота ҳам карбоксил гуруҳига эга бўлиб, метиллашга мойил. Шунинг учун келтирилган услуб препаратнинг тозалигини аниқлаш учун таклиф этилди.

Фуросемиднинг «Акрихин» кимё-фармацевтик корхонаси ишлаб чиқарган субстанциясида иккита асосий ёт моддалари ажратилди. Фуросемид ва унинг ёт моддаларини аниқлаш учун юқоридаги сингари фуросемид стандарт намунаси ва 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота стандартининг метил ҳосилалари олиниб, юқорида келтирилган шароитларда хроматографияланди.

Компонентнинг чинлигини аниқлаш модданинг ушланиш вақтига асосланиб, шундай ишланган стандартнинг хроматографик кўрсаткичларини солиштириб, амалга оширилди.

Текширилувчи серия намуналари моддаларидаги ёт моддаларнинг миқдорини баҳолаш учун ички нормаллаштириш усули қўлланилди. Бунда «Кристалл-2002» интеграторидан фойдаланилди.

Шундай қилиб, ишлаб чиқилган услуб асосида қисқа вақт оралиғида етарли аниқликда фуросемиднинг сифат ва миқдорий таҳлилини ГСХ усулида бажариш мумкин.

Газ-хромато-масс-спектрометрик усул юқори сезгирликка (10^{-8}-10^{-12} г) эга бўлиб, бир вақтнинг ўзида парчаланиш маҳсулотларини ҳам аниқлаш имконини беради. Газ ташувчи сифатида гелий ишлатилди. Газ оқими 1,2 мл/мин тезликда берилди. Инжектор ҳарорати 280°С да ушланди. Колонка

ҳарорати программалаштирилиб, 90°С дан 310°С гача 35°С/мин тезликда олиб борилди. Намунани 1 мкл ҳажмда юборилди.

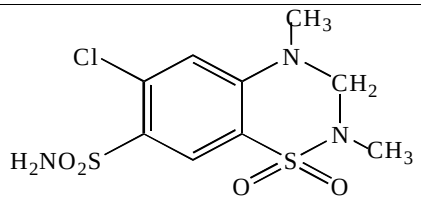
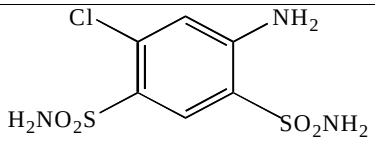
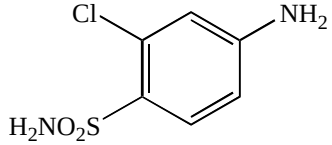
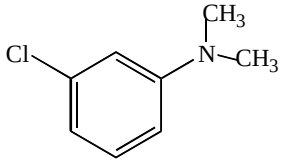
ГХ-МС таҳлилни олиб боришда диуретикларни дериватизация (метил ҳосилалари) қилинди. Олинган текширилувчи эритмалар юқорида келтирилган шароитларда хроматографияланди. Бунда диуретик дори воситаларининг масс-спектрларида қуйидаги характерли ионлари қайд этилди:

- гидрохлортиазид: 353, 310, 288, 266, 245, 218, 180, 138, 97, 75, 42 m/z;
- фуросемид: 372, 339, 312, 81, 53, 49 m/z;
- этакрин кислота: 316, 281, 261, 243, 227, 203, 172, 144, 73, 45 m/z;
- ацетазоламид: 264, 248, 108, 83, 43 m/z;
- спиронолактон: 535, 416, 374, 341, 311, 281, 207, 153, 126, 105, 43 m/z.

Гидрохлортиазид масс-спектридаги асосий характерли ионлари 5-жадвалда келтирилган.

5-жадвал

Гидрохлортиазидни масс-спектридаги асосий характерли ионлари

Тузилиш формуласи	M/z	Чўққиларнинг нисбий интенсивлиги, %
	Гидрохлортиазид 351/ 353	100
	286/ 288	50
	218/ 220	48
	138/ 140	47
$CH_3 – NH_2 – SO_2H$	96 / 98	20

Шундай қилиб, диуретикларнинг таҳлили учун ГХ-МС услуби ишлаб чиқилди. Бунда масс-спектрдаги характерли ионлари бўйича уларни дори воситалари ва биологик объектларда ишончли идентификациялаб, аниқлаш мумкин.

ЎзР ФА нинг У.А. Орипов номидаги электроника илмий текшириш институтида ПИИ-Н-С «Искович – 1» индикатор асбоби яратилди. У наркотик моддаларнинг биологик объектлардаги кам миқдорларини аниқлашга мўлжалланган бўлиб, ҳозирги кунда кўпгина суд-тиббиёт лабораторияларда қўлланилмокда. Шундан келиб чиқиб, диуретикларни

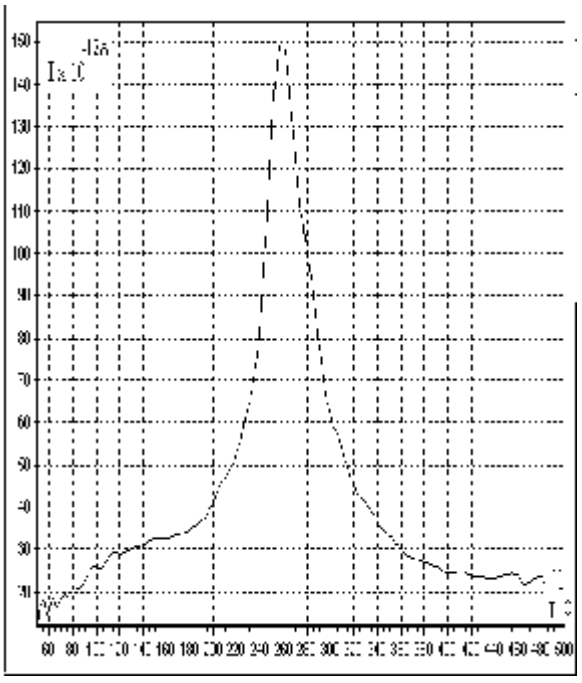
биологик объектлардан аниқлаш учун термодесорбцион сирт ионизациялашган спектроскопик таҳлили (ТДСИС) ишлаб чиқилди.

Бу усулда текширилаётган диуретик дори моддаларини аниқлаш учун таҳлил қуйидаги шароитларда олиб борилди: эмиттер – таркибида иридий сақлаган оксидланган молибден; эмиттернинг кучланиши – 405 В; Эмиттернинг ҳарорати – 390-420 °С; буғланиш ҳарорати – 20-505 °С; ҳаво оқими – 50 л/соат (компрессор кучланиши 12 В); спектрларни ёзиб олиш компьютер дастури ёрдамида бажарилди.

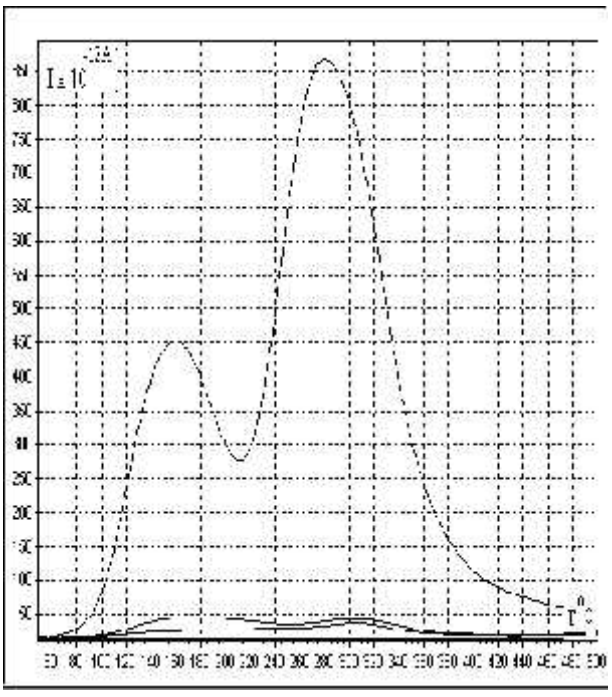
Ацетазоламид, гидрохлортиазид этакрин кислота ва фуросемидларнинг 200 мкг/мл сақлаган стандарт намуналарининг эритмалари тайёрланди. Микрошприц ёрдамида шу эритмадан асбобнинг буғлатгич қисмига юборилди ва текширилаётган диуретикларнинг термодесорбцион сирт ионизацион спектрлари олинди. Бунда маълум ҳароратда ҳар бир модда учун характерли чўққилар ҳосил бўлиши кузатилди. Биологик объектлардан ажратиб олинган диуретикларнинг чинлиги стандарт эритмаларининг спектрлари билан солиштириш орқали аниқланди. Максимум кўрсаткич гидрохлортиазид учун 310°С±5, ацетазоламид учун 255°С±4, фуросемид учун 249°С±3, спиронолактон учун 195°С±5, этакрин кислотаси учун 160°С ва 280°С±5 ни ташкил этади.

Айрим диуретикларнинг ТДСИ-спектрлари 2-расмда келтирилган.

а



б



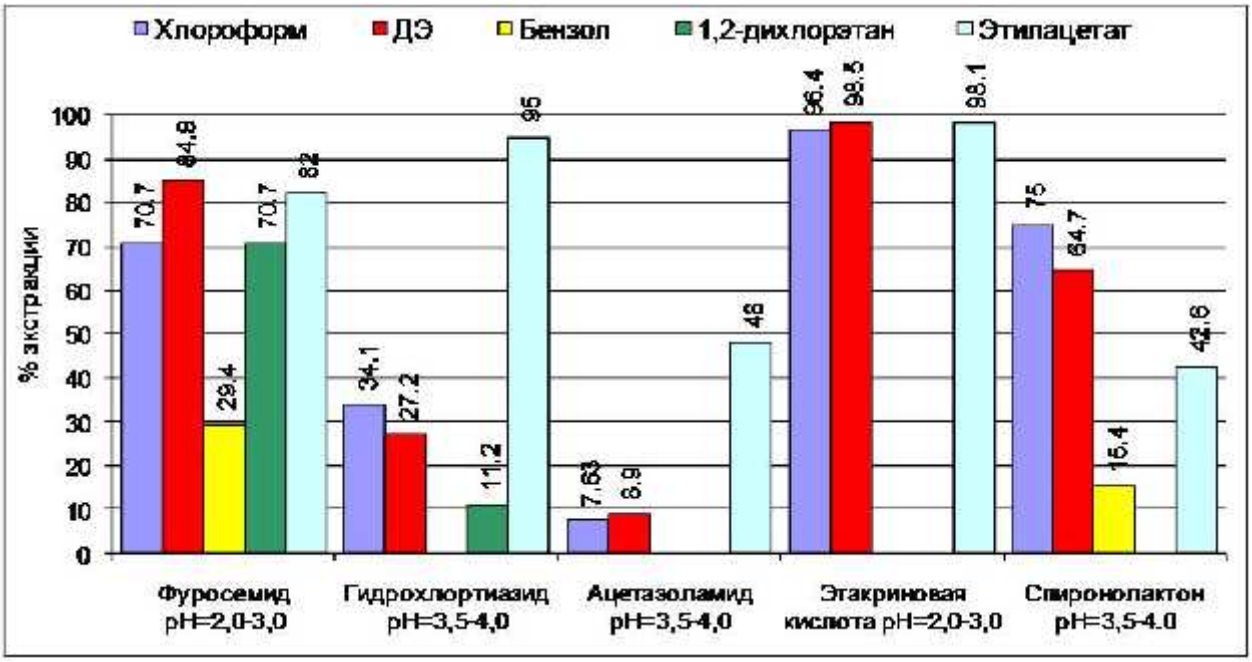
2-расм. Ацетазоламид (а) ва этакрин кислота (б) стандарт намуналарининг ТДСИ- спектрлари

Юқорида кўрсатилган усул бўйича бажарилган тадқиқотлардан хулоса қилиб, шуни таъкидлаш лозимки, янги ─ ТДСИ спектроскопик усулни диуретикларнинг кимё-токсикологик таҳлилида қўллаш мумкинлигини кўрсатади.

Турли объектлардан диуретик дори воситаларни ажратиб олиш услубларни ишлаб чиқишнинг назарий асослари ва амалий аҳамияти

Токсикологик аҳамиятга эга диуретик дори воситаларини текширилувчи биологик объектдан ажратиб олиш кимё-токсикологик таҳлилда ҳал қилувчи омил ҳисобланади. Текширишнинг муваффақияти кўп ҳолларда ажратиб олишнинг самаралилигига, ажратиб олиш қобилиятига, ажратмаларнинг тозалик даражасига боғлик. Экстракция жараёнида маълум pH муҳитини ушланилиши ва бу жараёнга органик эритувчи табиатининг таъсири ҳисобга олиниб, амалиётда қўлланилиши лозим. Шунга кўра, синтетик диуретик дори воситаларини сувли эритмаларидан экстракция қилинишида оптимал шароитларни танлаш ва бу натижаларни уларнинг биологик материалдан ажратиб олинишига татбиқ этиш вазифа қилиб олинди.

Диуретикларни сувли эритмаларидан экстракция қилиш учун янги ҳайдаб тозаланган 1,2-дихлорэтан, хлороформ, диэтил эфири, бензол, толуол, этилацетат, гександан фойдаланилди. Экстракцияланган диуретикларнинг миқдорини УБ-спектрофотометрик усулда калибрлаш графиги ёки солиштирма нур ютиш кўрсаткичи орқали аниқланди. Тажрибалар натижаси 3-расмда ўз ифодасини топган.



3-расм. Диуретик дори воситаларини сувли эритмаларидан экстракция қилишнинг pH муҳити ва органик эритувчи табиатига боғлиқлиги

3-расмдан кўриниб турибдики, текширилаётган диуретиклар асосан кислотали муҳитда: фуросемид ва этакрин кислота юқори даражада pH 2,0-3,0 да диэтил эфири ва этилацетат билан, pH 3,5-4,0 да – ацетазоламид ва

гидрохлортиазид этилацетатда, хамда спиронолактон – хлороформ билан экстракцияланади.

Мураккаб дори воситалари – триампур композитум ва адельфан-эзидрекснинг бошқа компонентлари ишқорий эритмаларда pH 8,5-9,0 да яхши экстракцияланади. Триамтерен ва резерпин учун энг яхши экстрагент хлороформ, дигидралазин учун – этилацетат ҳисобланади.

Шунингдек, текширилаётган диуретикларнинг сувли эритмалардан экстракцияланиш даражасига электролитлар - натрий хлорид ва аммоний сульфатнинг 5% ва тўйинган эритмалари таъсири ҳам ўрганилди. Электролитлар иштирокида ўтказилган тажрибалар юқори экстракцияланишга эга бўлган pH муҳитида олиб борилди. Бунда сувли муҳитга электролитнинг қўшилиши, текширилаётган диуретикларнинг органик эритувчилар билан экстракцияланиш даражасига ижобий таъсир қилди.

Биологик суюқликларнинг (қон, пешоб) таҳлили ички аъзо тўқималарини кучли таъсир этувчи моддаларга, жумладан, диуретикларга текширишда асосий боскичлардан бири ҳисобланади. На фақат натив ҳолдаги моддани, балки унинг асосий метаболитларини аниқлаш кимё-токсикологик таҳлил учун бирламчи аҳамиятга эга бўлиб, кимёгар-экспертга жабр кўрган одамнинг терапевтик ёки токсик дозада истеъмол қилганлигини аниқлашга ёрдам беради. Бошланғич токсик агентни унинг метаболитига нисбатан миқдорининг кўп бўлиши кучли заҳарланиш содир бўлганлигидан далолат беради.

Дори моддаларини беморларнинг қони ва пешобида аниқлаш клиника шароитида даволашни назорат қилишда, терапевтик мониторингни амалга оширишда, спортчиларнинг допинг назоратида, ҳамда профпатология ва токсикология муаммоларини ҳал қилишда кенг кўламда қўлланилади.

Диуретиклар организмдан асосан ўзгармаган ҳолда (ацетазоламид, гидрохлортиазид), ва фақат уларнинг оз миқдори метаболит ҳолида чиқарилади. Метаболизм жараёнида спиронолактон парчаланиб, канренонни хосил килади. Фуросемидни бир марта қабул қилинишини ўрганиш натижалари (Yakatan, 1984) шуни кўрсатадики, метаболизм жараёнида киритилган дозанинг 80% пешоб билан ўзгармаган ҳолда, 7% - 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота ва 7% - номаълум метаболитлар ҳолида экскрецияланади.

Шу муносабат билан, фуросемиддан заҳарланишнинг ташхисида, айниқса, узоқ вақт давомидаги интоксикацияларда ва фуросемидга олиб бориладиган суд-кимёвий таҳлилларда на фақат натив моддани, балки унинг метаболити 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотани ҳам ҳисобга олиш керак.

Диуретикларни сувли эритмалардан экстракциялаш бўйича олинган тажриба натижалари асосида аниқланилаётган моддаларни биологик суюқликлардан (қон, пешоб) ажратиб олиш учун тегишли органик эритувчилар танланди. Экстрактлар чинни товоқчаларда парлатилиб, қуруқ қолдиқ 0,5 мл-1,0 мл ацетонда эритилди ва соэкстрактив моддалардан юпқа

қатлам хроматографияси усулида тозаланди. Хроматографик пластинкадаги сорбент юзасидан диуретикларни этанол билан элюация қилиб олингандан сўнг элюатлар ҳажми 10 мл га етказилди ва уларнинг УБ-спектрофотометрияси усулида сифат ва миқдорий аниқлашлари бажарилди. Тадқиқотлар натижалари 6-жадвалда келтирилган.

6-жадвал

Диуретикларни биологик суюқликлардан ажратиш натижалари

Текширилувчи модда	pH муҳити	Биосуюкликдан ажратиб олинди, %		
		Қондан	Пешобдан	Ошқозон ювинди сув.
Гидрохлортиазид	3,5 – 4,0	71,1 – 73,5	85,5 – 86,6	74,1 – 76,5
Ацетазоламид	3,0 – 4,0	41,0 – 43,9	55,0 – 56,6	45,0 – 47,9
Фуросемид	2,0 – 3,0	84,5 – 85,8	67,5 – 70,0	65,5 – 67,8
4-хлор-5-сульфамоил-антранил кислота	2,0 – 3,0	60,3 – 65,1	50,9 – 54,5	46,3 – 48,1
Триамтерен	8,0 – 9,0	59,2 – 61,7	66,3 – 68,4	64,4 – 66,2
Этакрин кислота	2,0 – 3,0	72,5 – 74,4	80,6 – 81,7	67,5 –69,4
Спиронолактон	3,5 – 4,0	52,6 – 54,8	57,1 – 58,5	48,0 – 50,6

Ишлаб чиқилган услублар диуретиклар қабул қилган кўнгиллилар ва юрак етишмовчилиги билан касалланган беморларнинг пешоб таҳлилида қўлланилди. Таклиф этилган услублар диуретикларни беморлар пешобидан ажратиб олиш учун қўл келиши ва уларни терапевтик дозада қабул қилинганда ишонч билан аниқлаш имкони тасдиқланди.

Диуретик дори воситаларини биологик суюқликлардан ажратиб олиб аниқлашнинг ишлаб чиқилган услублари ацетазоламидни, гидрохлортиазидни, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва унинг метаболити 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислотани қон, пешоб ва ошқозон чайинди сувлари таркибидан етарли миқдорда аниқлайди, бундан эса мазкур препаратлардан юзага келадиган заҳарланиш ҳолларида биологик суюқликларни экспресс таҳлилида фойдаланиш мумкин.

Диуретикларни ва уларнинг комбинациядаги дори воситаларини биологик материалдан ажратиб олиш услубларини ишлаб чиқиш

Ички аъзоларнинг тўқималари қон таҳлилига солиштирса бўладиган натижалар олишда энг яхши объектлар ҳисобланади. Баъзи ҳолларда тўқимада олиб борилган тадқиқотлар биосуюқликлар таҳлилига кўра қулай ва фойдали бўлиши мумкин. Объектларнинг турлича характерга эга эканлиги – ички аъзолар (жигар, буйрак, ўпка, ошқозон ва б.), жумладан, парчаланган бионамуналардан ажратиб олиш услубининг ўзига хослигини таъминлайди.

Адабиётларда диуретикларни организмнинг ички аъзолар ва тўқималаридан ажратиб олиш усуллари ҳақида маълумотлар йўқлиги

туфайли, уларни биообъектдан ажратиш учун адабиётларда келтирилган токсикологик аҳамиятга эга моддаларни ажратишнинг умумий усулларининг (А.А. Васильева, В.Ф.Крамаренко, Стас-Отто) яроқлилиги текширилди.

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида диуретикларни биологик материалдан классик усуллар ёрдамида ёмон ажратилиши тасдиқланди. Фуросемидни доимий қўлланилиб келган умумий усуллар ёрдамида ажратиб олиш даражасини нисбий ўрганишга кўра, препарат А.А. Васильева усулида 1,9%, В.Ф. Крамаренко усулида 6,3% ва Стас-Отто усулида – 11% ажратилади. Бу натижалар кимё-токсикологик текшируви услубларининг талабларини қониқтирмайди.

Шундан келиб чиқиб, ўрганилаётган диуретикларни биологик объектлардан ажратиб олишнинг мўтадил услубини яратиш зарурати туғилди.

Маълумки, дори моддаси организмга тушгандан сўнг ҳужайралар ичига киради, ҳужайра ташқарисидаги суюқликда ва ёғ тўқималарида тарқалади. Шунинг учун моддаларни биологик объектлардан ажратишда ҳужайра ичига кириб, мембрананинг сувли ва ёғли қисмларида жойлашган текширилувчи моддаларни ўзида эритиб олиб чиқадиган эритувчини ишлатиш мақсадга мувофиқ бўлар эди.

Экстракция шароитларини танлашда эритувчиларнинг қутблилиги, хусусийлиги, сув билан аралашиши, органик эритувчининг учувчанлиги ва киши организмига зарарли томонларини эътиборга олиш лозим. Бу ҳолда ацетон бошқа амфифил эритувчиларга – метанол, этанол, пропанол, диметилформамид, ацетонитрил ва б. нисбатан қулай ҳисобланади. Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, диуретиклар ацетонда яхши эрийди, бу эса тўлиқ ажратиш учун катта аҳамиятга эга. Ацетонда ацетазоламид ва гидрохлортиазид яхши, фуросемид – жуда яхши, этанолда нисбатан ёмон эрийди. Изланишлар натижасида 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота ҳам ацетонда яхши эриши маълум бўлди.

Ўрганилаётган моддаларнинг кимёвий тузилиши бўйича уларнинг молекулаларида очиқ карбоксил гуруҳи мавжуд, бу эса моддаларнинг pH муҳитига боғлиқ ҳолда орган тўқималарида ионланган ва ионланмаган шаклда бўлишлигини кўрсатади. Шунга кўра ионланган шаклдаги моддаларни ажратиш учун кўпроқ гидрофил (қутбли) эритувчилар мос келади, агар модда молекуляр ҳолда бўлса, амфифил эритувчилар тўғри келади. Гидрофил ва амфифил эритувчилар аралашмаси ёрдамида ионланган, ҳамда молекуляр шаклдаги моддаларни ажратиб олиш мумкин. Шундан келиб чиқиб, ўрганилаётган диуретикларни биологик объектлардан ажратиш учун эритувчи сифатида ацетон ва сув аралашмаси олинди.

Диуретикларни ажратиб олишнинг ишлаб чиқилган усули қуйидаги босқичлардан иборат: биологик материални ацетон ва оксалат кислотаси билан нордонлаштилган сув (pH 2,0-3,0) аралашмаси билан бўктириш ва вақти-вақти билан аралаштириш; объект устидаги суюқлик қисмини ажратиш ва 3000 айл/мин да 5 минут давомида центрифугалаш; сувли-ацетон ажратмаларни натрий хлорид тузи билан тўйинтириш ва чайқатиш; қатламлар

ажралгандан сўнг ацетон қисмини ажратиш ва парлатиш; ацетон буғлангандан сўнг қолган сувли қисмидан диуретикларни экстракция қилиш; олинган экстрактларни ЮҚХ, ЮССХ ва УБ-спектрофотометрик усулда таҳлил қилиш.

Қатор омилларни ҳисобга олиш (pH муҳити, органик эритувчи табиати ва диуретикларни экстракцияланиш даражасига электролитнинг таъсири) ва ажратиб олувчи суюқликни тўғри танлаш текширилувчи моддаларни биологик материалдан ацетоннинг сув билан (5:3) аралашмаси ёрдамида ажратиб олиш услубини тавсия этиш имконини берди.

Чинни товоқчада қолган қолдиқ этанолнинг оз миқдорида (0,5-1,0 мл) эритилди ва хроматографик пластинканинг старт чизиғига томизилди. Старт чизиғига гувоҳ сифатида диуретикнинг стандарт намунаси эритмасидан 5 мкл томизилди ва ажратиб олинган препаратни хроматографик тозаланди. Шу тариқа олинган элюатлар текширилаётган диуретикларга таҳлил қилинди. Биз таклиф этган услуб бўйича биологик материалдан ажратиб олинган диуретикларни миқдорий аниқлаш натижалари 7-жадвалда келтирилган.

7-жадвал

Биологик материалдан ажратиб олинган диуретикларни миқдорий аниқлаш натижалари

Текширилувчи моддалар	Қўшил-ди, мг	Аниқланди		Метрологик ҳисоблашлар
		мг	%	
Гидрохлортиазид	5	3,35–3,50	67,0 –70,0	$X_{ўрт.}$=68,74; S^2=1,68; S=1,29; S_x=0,58; E=11,03% $E_{ўрт}$=4,93%
Этакрин кислота	5	2,67 –2,85	55,6 –57,0	$X_{ўрт.}$=55,16; S^2=2,54; S=1,59; S_x=0,71; E=16,9% $E_{ўрт}$=7,55%
Ацетазоламид	10	4,32 –4,45	43,2 –44,5	$X_{ўрт.}$=43,28; S^2=0,74; S=0,86; S_x=0,385; E=5,53% $E_{ўрт}$=2,42%
Фуросемид	5	3,4 –3,5	68,5 –70,0	$X_{ўрт.}$=68,7; S^2=1,70; S=1,30; S_x=0,58; E=11,08%;$E_{ўрт}$=4,95%;
4-хлор-5-сульфамоил-антранил кислота	5	2,42–2,76	48,4– 55,3	$X_{ўрт.}$=51,46; S^2=8,65; S=2,94; S_x=1,31; E=26,9% $E_{ўрт}$=10,55%
Триамтерен	5	2,68-2,75	53,6 –55,3	$X_{ўрт.}$=54,26; S^2=0,43; S=0,66; S_x=0,29; E=7,12% $E_{ўрт}$=3,18%
Спиронолактон	5	2,46–2,57	49,3- 51,4	$X_{ср.}$=50,29; S^2=0,62; S=0,79; S_x=0,35; E=9,18% $E_{ср}$=4,10%

7-жадвалда келтирилган маълумотлар кўрсатишича, ўрганилаётган диуретиклар биз ишлаб чиққан услуб бўйича 40-70% миқдорларда ажратилади.

Ҳайвонлардан олинган турли ашёларда диуретикларни сақланиши, ички аъзоларда йиғилиши ва тарқалишини ўрганиш

Суд-кимё лабораторияларига қатор ҳолларда текшириш учун мурданинг чириган ички аъзолари келиб тушади. Бунда заҳарланишга сабаб бўлган моддалар турли хил ўзгаришларга учрайди. Адабиётлардаги маълумотларга қараганда моддалар турли хил ўзгаришларга, чириш жараёнида тез парчаланишга ва метаболизмга учрайди. Шунинг учун токсикологик аҳамиятга эга моддаларнинг ички аъзоларида сақланиши ҳақидаги маълумотлар текширилувчи объектда заҳарли моддаларни аниқлаш учун қайтадан экспертиза олиб боришда асосий ролни ўйнайди.

Суд-кимёвий экспертиза масалаларини ҳал килиш учун тадқиқ қилинаётган диуретикларни биологик объектда парчаланишига чириш жараёнининг таъсирини ўрганишни мақсад қилиб олинди. Тадқиқотларни модель намуналарда олиб борилди. Биоматериалнинг текширилувчи диуретик билан аралашмасини яхшилаб аралаштириб, хона ҳароратида турли вақт давомида сақланди. Маълум вақт ўтгандан сўнг диуретикни ишлаб чиқилган услуб бўйича биоматериалдан ажратилди. Олинган ажратмаларни тозалаш учун кислота-ишқор шароитида экстракция усулини қўлланди. Текширилувчи моддаларни кислотали эритмалардан органик эритувчилар ёрдамида экстракция қилингандан сўнг экстрактлар парлатилди ва қуруқ қолдиқ ацетоннинг оз миқдорида эритилди. Кейин уни сорбентнинг юпқа қатламида хроматографик тозаланди. Диуретикларни хроматографик пластинкада жойлашган зонасини этанол билан элюация қилинди. Олинган элюатларни ЮССХ ва УБ-спектрофотометрик усулларда сифат ва миқдорий таҳлили бажарилди. Тажрибалар натижаси 8-жадвалда келтирилган.

8-жадвал

Баъзи диуретикларнинг чириш жараёнида биологик материалдаги сақланишини ўрганиш натижалари

Сақла-ниш муддати, кун	Биологик материалда аниқланди							
	Ацетазоламид (қўшилди 10 мг)		Гидрохлортиазид (қўшилди 5мг)		Фуросемид, (қўшилди 10 мг)		Этакрин к-та (қўшилди 10 мг)	
	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%
5	4,42	44,23	2,71	54,27	4,17	41,68	2,95	29,53
10	3,71	37,15	1,67	33,54	3,32	33,18	1,64	16,45
15	1,95	19,58	0,87	17,28	2,47	24,74	0,96	9,58
40	0,74	7,42	0,28	5,74	1,05	10,46	-	-
Этил спирти билан консервацияланганда								
90	5,49	54,9	2,61	52,2	7,01	70,1	2,79	27,9
180	3,86	38,6	1,72	34,5	4,23	42,3	2,01	20,1
365	2,58	25,8	1,08	21,6	2,14	21,42	1,46	14,6

Тадқиқот натижалари бўйича ацетазоламид, гидрохлортиазид чириш жараёнида 40 кунгача мос равишда 7,42% ва 5,74% , этакрин кислота эса – 14 кунда – 9,58% аниқланади. Биологик объектни этил спирти билан консервациялганда ўрганилаётган диуретикларнинг сақланиши ошади. Бунда диуретикларни 12 ой ўтгандан сўнг аниқлаш мумкин: ацетазоламид - 25,8%, гидрохлортиазид -21,6% и этакрин кислота -14,6%. Фуросемидни 7ой мобайнида (4,5%) аниқлаш мумкин

Заҳарланишга сабаб бўлган токсикологик аҳамиятга эга моддаларнинг кимё-токсикологик текширувига юбориш учун ички органларни танлашда уларнинг организмдаги тахминий тарқалишини билиш зарур, чунки заҳарли ва кучли таъсир этувчи моддаларнинг тарқалиши бир текис бўлмайди: битта аъзо ёки тўқимада кўп миқдорда тўпланса, бошқасида – камроқ, баъзиларида эса умуман бўлмаслиги мумкин. Шундан келиб чиқиб, диуретикларнинг ички аъзолар ва биологик суюқликларда тўпланилишини ўрганишни мақсад қилиб олдик.

Тажрибаларда 2,0 кг дан 3,2 кг гача оғирликка эга бўлган қуёнлардан фойдаланилди. Уларнинг ошқозонига 1кг оғирликка 80 мг тўғри келадиган миқдорда диуретик дори воситасининг сувли суспезияси зонд орқали киритилди. Диуретикни юборилгандан 2 соат вақт ўтгандан сўнг ҳайвонлар жонсизлантирилди. Ҳайвон мурдаларидан ички аъзолар олиниб, уларнинг ҳажм ва оғирликлари аниқланди. Тадқиқ қилинаётган диуретикларни мазкур аъзолардан ажратиб олиб, таҳлил қилиш ишлаб чиқилган услублар ёрдамида амалга оширилди.

Ўрганилган диуретикларнинг энг кўп миқдори қон ва пешоб, ошқозон, ингичка ичак ва буйракларда топилиши тасдиқланди. Ўрганилган диуретиклар билан заҳарланишга гумон қилинганда кимё-токсикологик ёки суд-кимё экспертизаси учун қон ва пешоб, ошқозон ва ингичка ичак таркибий қисми билан, ҳамда буйрак жўнатилиши лозим.

Диуретик дори воситаларининг термодинамик тадқиқотлари

Дори воситалари бошқа моддалар каби ферментлар таъсири остида жигар, ошқозон-ичак йўлида, буйраклар ва ўпкаларда турли кимёвий ўзгаришларга учрайди, бу эса уларнинг фармакологик фаоллигига, унинг давомийлигига ва заҳарлилигига таъсир кўрсатади, яъни уларнинг организмдаги метаболитик ўзгаришларига боғлиқ бўлади. Баъзи ҳолларда диуретик даволаш бир неча ойлар давомида олиб борилиши туфайли бу боғлиқликни билиш диуретиклар билан зарарсиз ва самарали даволашда катта аҳамият касб этади.

Стандарт намуналарнинг ва сезгир, хусусий ажратиб олиш услубларининг йўқлиги сабаб метаболитларни ажратиб олиш ва аниқлаш ўзига хос ва қийинчиликларга эга. Шунга кўра, токсик моддаларнинг метаболизм йўлларини назарий башорат қилиш лозимлиги юзага келади. Диуретикларнинг организмдаги метаболизми ҳақидаги маълумотлар тўлиқ

эмас. Шунинг учун термодинамик қонунларни ҳисобга олиб ўрганилаётган диуретикларни инсон организмидаги метаболизм йўлларини башорат қилиш лозим бўлади.

Дори моддаси маълум ҳароратда кимёвий ўзгаришларга учрайди (термик парчаланиш). Дериватография дори моддалари қиздирилганда термоэффект ҳароратлари ва намуна оғирлигига мос ҳолда ўзгариши, уларнинг термик турғунлиги ҳақида қимматли маълумотлар беради. Дериватограммадаги эндотермик эффектлар аниқ ҳароратда молекуланинг парчаланишини (массанинг камайиши) кўрсатади. ИҚ-спектроскопик кўрсаткичлардан фойдаланиб, модданинг парчаланиш маҳсулотларини идентификациялаш мумкин, яъни намуна қиздирилганда қандай функционал гуруҳларни йўқотади.

Изланишлар Паулик-Паулик-Эрдей системасидаги дериватографда 8 град/мин тезликда олиб борилди. Тортмалар 31-104 мг ни ташкил этиб, гальванометр сезгирлиги т-900. ТГ-200, ДТА-1/10, ДТГ – 1/10. Натижаларни ёзиб олиш уй ҳароратидан то 700-800 °С гача белгиланди. Эталон сифатида алюминий оксид ишлатилди.

ДТА ва ДТГ кўрсаткичлари бўйича гидрохлортиазид тўртта эндотермик эффектларга 70, 200, 275, 367°С эга (бошидаги иккита эндотермик эффект массаси ўзгармаган ҳолда кетади, кейингилари – массаси камайиши билан). Этакрин кислота дериватограммасида учта эндотермик эффект 69, 135, 260°С қайд этилди, ацетазоламиднинг қиздирилиш эгрилиги битта 280°С даги эндотермик эффекти билан характерланади.

Дериватограмма кўрсаткичларига асосланиб, шуни хулоса қилиш мумкинки, намуналарнинг термик ҳолати моддаларнинг таркиби ва тузилишига боғлиқ. Бунда этакрин кислота бошқа моддаларга нисбатан тез парчаланади. Гидрохлортиазид учун 260-310°С оралиғида массанинг камайиши 3,33% ташкил қилади, ундан кейинги ҳароратнинг кўтарилиши бирикманинг босқичма-босқич парчаланишига олиб келади. Бу маълумотларга кўра, гидрохлортиазид ва ацетазоламид организмда метаболизмга кам миқдорда учрашини тахмин қилиш мумкин.

Диуретикларнинг организмдаги парчаланиш йўлларни термодинамик башорати молекуладаги Гибсс энергиясини боғларнинг узилишига кўра ҳисоблаб бажарилди. Гиббс энергияси – кимёвий системалар учун термодинамик потенциал бўлиб, хусусан, доимий ҳарорат ва босимда кечадиган жараёнларга тегишли.

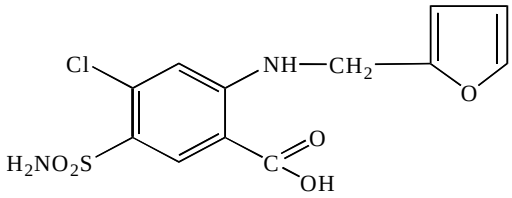
Биокимёвий тизимларнинг таҳлилида бир углеродли фрагментлар (БУФ) қўлланилади. Бунда парчаланган органик бирикманинг фрагментлари биттадан углерод атомини сақлайди. Шундан келиб чиқиб, молекула системада қанча углерод сақлашига қараб шунча БУФ га бўлинади. Моддаларни парчаланишининг Гиббс энергияси куйидаги формула орқали ҳисобланди:

$$\Delta\dot{G}_{сг}(X) = \sum \Delta\dot{G}(Фр)$$

Ўрганилаётган диуретикларнинг молекулалари ҳар бир фрагмент ўз таркибида фақат битта углерод атоми сақлаган турли бўлакларга бўлинди. Молекула парчаланишидаги Гиббс энергиясини ҳисоблаш намунаси 9-жадвалда кўрсатилган.

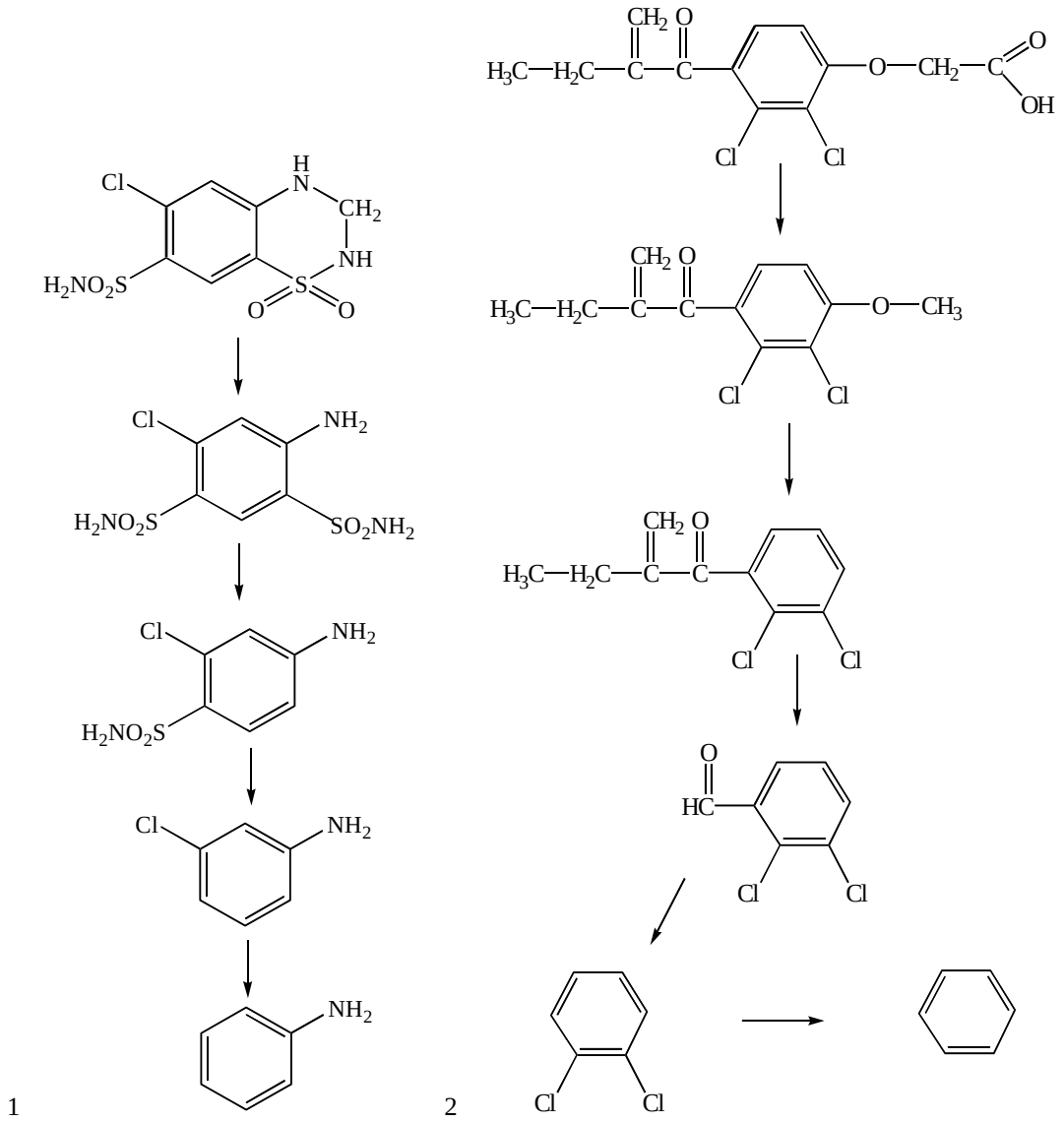
9-жадвал

Фуросемид молекуласининг алохида фрагментларга парчаланиши



№	Бир углеродли фрагмент	Молекуладаги боғнинг сони	Боғларнинг Гиббс энергияси, кДж/моль	Боғларнинг Гиббс энергия йиғиндиси, кДж/моль
1	Cl —C= |	1	- 420	- 420
2	H—C= (ароматик.) |	2	- 533,5	- 1067
4	| H_2NO_2S—C= |	1	- 373	- 373
5	—NH —C= |	1	- 359	- 359
6	—C= |	1	- 420	- 420
7	HO—C=O |	1	- 139	- 139
8	| H—C—H |	1	- 578	-578
9	H—C= (фуран халқа) | O—	2	- 481	- 962
11	H—C= (фуран халқа) |	2	- 542	-1084

Шундай қилиб, ҳисоблаш орқали текширилувчи синтетик диуретикларни ва уларнинг тахминий метаболитларини молекулаларининг парчаланиш Гиббс энергиялари топилди. Бажарилган назарий ҳисоблаш асосида текширилувчи диуретикларнинг парчаланиш чизмаси ишлаб чиқилди. Тузилган парчаланиш чизмаси 4-расмда келтирилган.



4-расм. Гидрохлортиазид (1)ва этакрин кислота (2) молекулалари парчаланишининг тахминий чизмаси

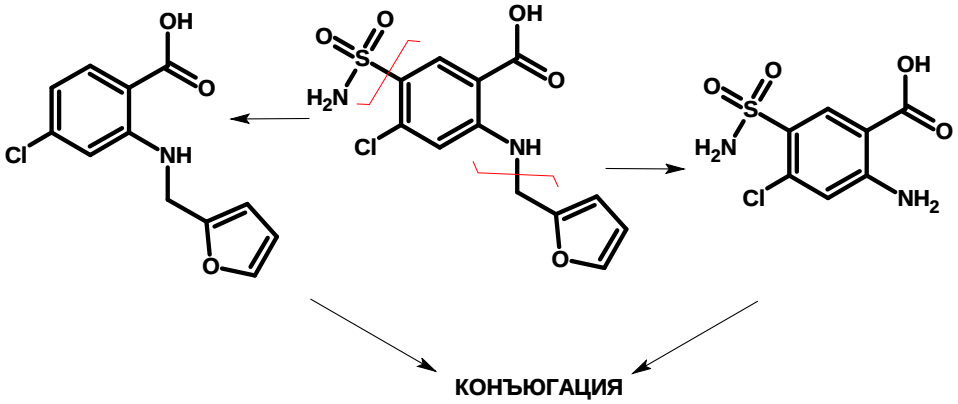
Диуретиклар ва уларнинг метаболитларини юқори концентрацияда пешобда йиғилиши (аккумуляцияси) юқорида кўрсатилган усуллар ёрдамида чинлигини ва миқдорини аниқлашни осонлаштиради.

Ўрганилган диуретикларнинг тахмин қилинган метаболитларини чинлигини қуйидаги услуб бўйича амалга оширилди: текширилаётган диуретикларни биологик суюкликлардан экстракциялаш учун Varian (USA) корхонасининг кислотали toxi-tubes ва ишқорий toxi-tubes дан фойдаланилди. Бунинг учун диуретиклар- гидрохлортиазид, фуросемид ва спиронолактоннинг стандарт намуналарини этанол эритмалари (1 мг/мл) тайёрланди. toxi-tubes ларга суюлтирилган ишчи эритмалардан, хамда биологик суюкликлардан солиб экстракцияланди. Юқори органик қисми ажратилди ва қуруқ қолдиқгача парлатилди. Сўнгра курук колидик етил йодид ёрдамида ишлаб чиқилган услуб бўйича дериватизация қилинди. Шундай йўсинда тайёрланган текширилувчи эритмаларни ГХ-МС

инжекторига юборилди. Масс-спектр ёрдамида фрагмент ионларнинг тузилиши аниқланди.

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида ҳосил бўлган фрагментларнинг тузилиш формулалари кўп ҳолларда молекуланинг парчаланиш Гиббс энергияси ва боғларнинг узилиш энергиясини назарий ҳисоблаш асосида башорат қилинганлари билан тўғри келади. Текширилаётган моддалар молекулаларининг парчаланиши шу боғларнинг ҳосил бўлиши учун энергия кам сарфланган жойдан кетади.

Тадқиқотлар натижасида ўрганилаётган диуретик дори воситаларининг молекулаларини ГХ-МС усулда аниқланганда уларнинг тахминий метаболизм чизмасини тасдиқлади. Масалан, фуросемид учун 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота, конъюгация маҳсулотлари ва фуросемид глюкуронид ҳосил бўлиши характерлидир:



Тузилиш формуласида сульфамид гуруҳини сақлаган диуретиклар ацетилланиш ҳисобига сульфаниламидлар каби метаболизмга учрайди. Реакция сульфамид гуруҳидаги аминогуруҳ орқали кетади. Сульфаниламидларнинг ацетил ҳосилалари сувда бирламчи моддаларга нисбатан ёмонроқ эрийди ва буйрак каналчаларида кристалланиши мумкин (кристаллурияни келтириб чиқаради).

Дори моддаларининг ацетилланиши ҳар хил одамларда турлича тезликда кетади. Бу генетик асосланган бўлиб, N-ацетилтрансфераза фаоллигига боғлиқ (Г.А.Чалый, 2000). Дори препаратларини танлаганда ацетилланиш реакциясини берадиган қобилиятини ҳисобга олиш лозим. Диуретикларнинг ярим чиқиш вақти тез ацетилланишга мойил одамларда кам бўлса, секин ацетилланишга мойил одамларда эса узоқроқ. Демак, бир хил кўрсатма билан бир хил дозада берилганда, секин ацетилланишга мойил касалларда диуретикнинг аккумуляцияси рўй бериши ва қон зардобида унинг юқори концентрацияси ҳосил бўлиши мумкин. Бир тарафдан бу терапевтик самарани оширса, бошқа тарафдан – ножўя таъсирга имконият яратилади.

Глутатион билан конъюгация жараёнлари кимёвий фаол электрофиль бирикмаларнинг детоксикациясида муҳим йўл ҳисобланади. Уларнинг тўқималарни некрози, канцерогенлик ва мутагенликларида кўринадиган токсик хусусиятлари оқсилларнинг нуклеофил гуруҳлари ва нуклеин кислоталари билан ковалент боғ ҳосил қила олишига асосланганлиги тасдиқланган. Қоидага кўра, ксенобиотикларнинг глутатион билан

конъюгатлари организмдан чиқарилмай, S-ўрин-алмашган N-ацетилцистеин ҳосиласини келтириб чиқарадиган давомий ўзгаришларга учрайди.

Глутатион билан конъюгацияга диуретиклар ҳам учрайди, хусусан, этакрин кислота. У тузилиш формуласининг углероддаги электрондефицит атоми ёки гетероатом, ҳамда электрон зичлиги кам бўлган қўш боғ ҳисобига глутатион билан таъсирлашади.

Диуретик дори воситалари ва уларнинг метаболитлари молекуляр тузилишида карбоксил гуруҳининг бўлиши глицин ва глутамин билан конъюгацияси бўйича метаболизмга учраш имконини беради. Глюкурон кислота колдиғининг ионлашган карбоксил гуруҳи ва қутбли гидроксил гуруҳлари билан бўлган конъюгация маҳсулотларининг сувда эрувчанлиги жуда ошади. Одатда битта функционал гуруҳнинг глюкурон кислотаси билан ҳосиласи экскрециянинг етарлича ошишига олиб келади.

Синтетик диуретик дори воситаларининг кимё-токсикологик тадқиқотлари уларнинг инсон организмига индефферент эмаслиги ва заҳарлилигини кўрсатади. Шунга кўра, диуретиклар билан даволашнинг эҳтиёт чораларини кўриш мақсадида бу бирикмаларнинг биологик суюқликлардаги концентрациясини назорат қилиш, ҳамда даволаш мониторингини олиб бориш тавсия этилади.

ХУЛОСА

1. Синтетик диуретик дори воситаларини кимё-токсикологик комплекс тадқиқотлари натижасида бу препаратлар билан даволаш мониторингини олиб бориш мақсадга мувофиқлиги асосланди.

2. Гидрохлортиазид, ацетазоламид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва комбинациядаги препаратлар - триампур-композитум ва адельфан-эзидрексни биолгик объектларда замонавий физик-кимёвий усуллар: ИҚ- ва УБ-, масс-, ва ЯМР-спектроскопик, термодесорбцион сирт-ионлашув спектроскопия усуллари ёрдамида янги ва мавжуд бўлганларини такомиллашган услубларини биринчи марта ишлаб чиқилди. Ўрганилган диуретик дори воситаларини ЮҚХ-скрининг, ГСХ ва ЮССХ таҳлилида аниқлашнинг мўтадил шароитлари танланди. Услубларнинг қайтарувчанлиги, сезгирлиги, селективлиги ва аниқлиги ўрганилди.

3. Гидрохлортиазид, ацетазоламид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемиднинг сувли эритмаларидан экстракция қилиш услублари ишлаб чиқилди. Экстракциялаш жараёнига pH муҳити, органик эритувчи табиати ва электролитлар таъсири ўраганилди. Тадқиқ қилинган диуретиклар асосан кислотали муҳитдан яхши ажралиши тасдиқланди ва умумий экстрагент сифатида этилацетат қўлланилиши тавсия этилди. Танланган шароитлар биологик суюқликларнинг таҳлилида ишлатилди.

4. Гидрохлортиазид, ацетазоламид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид ва триамтеренни биологик суюқликларда экспресс тахлил услублари ишлаб чиқилди.

Ишлаб чиқилган услубларни мазкур препаратлар билан кучли заҳарланишнинг ишончли диагностикасида ва жабр кўрганларга ўз вақтида тиббий ёрдам кўрсатишда, женерик воситаларнинг биоэквивалентлигини аниқлаш бўйича ўтказиладиган клиник тадқиқотларда, ҳамда спортчиларнинг допинг назоратида қўланилиши тавсия этилади.

5. Тадқиқ этилган диуретикларнинг заҳарланган лаборатория ҳайвонларининг ички аъзоларидан ажратиб олишнинг мўтадил услублари ишлаб чиқилди. Текширилувчи диуретикларни ацетоннинг сув билан аралашмаси (5:3) ёрдамида биологик объектдан ажратиб олишнинг умумий услуби таклиф этилди.

6. Биринчи марта гидрохлортиазид, фуросемид, ацетазоламид ва этакрин кислотани биологик объектлардаги чириш жараёнида сақланиш муддатлари аниқланди, бу жараёнга консервант таъсири ўраганилди. Биологик объектни этил спирти билан консервацияланганда ўрганилаётган диуретикларнинг сақланиши ошиши ва диуретикларни 12 ой ўтгандан сўнг 14-25% миқдорда аниқланилиши тасдиқланди.

7. Тадқик этилган диуретикларнинг тажрибаларда заҳарланган лаборатория ҳайвонларининг ички аъзолари ва биологик суюқликларда тарқалиши ва тўпланилиши ўрганилди. Тадқиқот натижаларини ҳисобга олиб кимё-токсикологик ёки суд-кимёвий экспертизага мурданинг ошқозон-ичак йўли таркибий қисмлари, пешоб билан пешоб қопи, қон ва буйрак юбориш тавсия этилди.

8. Диуретиклар – гидрохлортиазид, фуросемид, ацетазоламид ва этакрин кислоталарнинг биологик системаларда парчаланиш йўлларини термодинамик башорати ўрганилди, парчаланиш маҳсулотлари тажрибада тасдиқланди ва чинлиги аниқланди.

9. Фуросемид ва спиронолактоннинг биологик суюкликларда аниклашнинг ишлаб чиқилган услублари юрак етишмовчилигига дучор бўлган касалларининг қон ва пешоб тахлилларида синовдан ўтказилди ва уни даволаш мониторингини олиб боришда тавсия этилди.

10. Олинган натижалар асосида тадқиқ этилган диуретикларни дори препаратларида, биологик объектлар ва суюқликларда аниқлаш бўйича методик тавсияномалар тузилди.

Ишлаб чиқилган тавсияномалар ЎзР ССВ Суд-тиббиёт экспертизаси Бош Бюроси, Тошкент вилояти ва Тошкент шаҳри суд-кимёвий бўлимларининг амалиётига, ЎзР ССВ Кардиология марказининг биокимёвий лабораториясига, ҳамда дори воситаларининг сифатини ва стандартизациясини амалга оширадиган лабораторияларга тадбиқ этилди. Ўрганилган диуретикларни дори воситалари ва биологик объектларда аниқлашнинг юпқа қатлам хроматографияси, УБ- спектрофотометрияси, ҳамда юқори самарали суюқлик хроматографияси услублари Тошкент фармацевтика институтининг фармацевтик ва токсикологик кимё кафедраси, ҳамда Россия Халқлар дўстлиги университетининг фармацевтик ва токсикологик кимё кафедрасининг ўқув жараёнига тадбиқ этилди.

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида илмий монография тайёрланди ва чоп этилди.

ДИССЕРТАЦИЯ МАВЗУСИ БЎЙИЧА ЧОП ЭТИЛГАН ИЛМИЙ ИШЛАР

а) монография ва мақолалар

1. Алиходжаева М.И., Попков В.А. Физико-химические и химико-токсикологические исследования некоторых диуретических лекарственных средств.- (монография).- М.: Изд. Московского университета, 2008.- с.250.

2. Алиходжаева М.И., Икромов Л.Т. Способы обнаружения фуросемида // Судебно-медицинская экспертиза.-М.:Медицина.-1989.-№2.- С.32-33.

3. Алиходжаева М.И., Икромов Л.Т. Экстракция фуросемида органическими растворителями из водных растворов в зависимости от pH среды // Фармация.-М.:Медицина.- 1990.- №1.- С. 80-81.

4. Алиходжаева М.И., Икромов Л.Т., Убайдуллаев К.А. Фуросемид ва унинг метаболитини физик-кимёвий усулларда таҳлил қилиш // Kimyo va farmatsiya.- Тошкент, 2003.- №2.- Б. 21-23.

5. Алиходжаева М.И. Химико-токсикологическое определение гидрохлортиазида // Фармацевтический вестник Узбекистана.-Ташкент, 2005.- №3.- С. 24-28.

6. Алиходжаева М.И., Салихов Д., Таджиев М.А. Способы обнаружения адельфан-эзидрекса //Фармацевтический вестник Узбекистана.-Ташкент, 2006.- №1.- С. 37-38.

7. Алиходжаева М.И., Алиев А., Таджиев М.А. Экстракция гидрохлортиазида из водных растворов в зависимости от pH среды и природы органического растворителя // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2006.- №1-2.- С. 39-41.

8. Алиходжаева М.И., Бекчанов Х.Н., Дусматов А.Ф. Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа лекарственных веществ диуретического действия // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2006.- № 3.- С. 30-32.

9. Ориентировочное распределение гидрохлортиазида во внутренних органах отравленных животных / Алиходжаева М.И., Алиев А.Э., Таджиев М.А., Бекчанов Х.Н. // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2006.- № 3.- С. 36-37.

10. Алиходжаева М.И., Бекчанов Х.Н., Таджиев М.А. Идентификация и количественное определение этакриновой кислоты методом ВЭЖХ // Фармацевтический вестник Узбекистана.-Ташкент, 2007.- №1.- С. 26-27.

11. Алиходжаева М.И., Бекчанов Х.Н. Обнаружение и количественное определение ацетазоламида в биологическом материале // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2007.- № 1.- С. 61-63.

12. Ориентировочное распределение ацетазоламида во внутренних органах отравленных животных / Алиходжаева М.И., Тулаганов Б., Бекчанов

Х.Н., Тухтаева Ш. // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2007.- № 2.- С. 41-43.

13. Алиходжаева М.И. О безопасности применения диуретиков и необходимости контроля концентрации их в крови // Фармацевтический вестник Узбекистана.-Ташкент, 2007.- №2.- С. 54-61.

14. Мавлянова М.Б., Алиходжаева М.И., Абдурахманова К. Идентификация компонентов комбинированного препарата Карлон плюс методом тонкослойной хроматографии // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2007.- № 4.- С. 40-42.

15. Алиходжаева М.И., Тулаганов Б., Мухитдинов С.М. Ориентировочное распределение триамтерена во внутренних органах отравленных животных // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2008, № 1.- С. 19-21.

16. Алиходжаева М.И. Исследование некоторых синтетических диуретиков методом термодесорбционной поверхностно-ионизационной спектроскопии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- Москва, 2009.- №1.- С. 61-63.

17. Алиходжаева М.И., Попков В.А. Экспресс-анализ некоторых диуретиков в биологических жидкостях // Фармация Казахстана.-Алматы, 2009.- №1.- С. 27-28.

18. Алиходжаева М.И. К вопросу изолирования некоторых диуретиков из биологических объектов // Фармацевтический журнал.- Ташкент, 2009.- №1.- С. 42-45.

б**) методик тавсияномалар**

19. Алиходжаева М.И. Определение гидрохлортиазида в лекарственных препаратах и биологических объектах: Методическая рекомендация.- Ташкент, 2007.- 11с.

20. Алиходжаева М.И. Определение диуретического лекарственного средства – ацетазоламида в биологических объектах: Методическая рекомендация.- Ташкент, 2007.- 8 с.

21. Алиходжаева М.И. Определение фуросемида и 4-хлор-5-сульфамоилантраниловой кислоты в лекарственных препаратах и биологических объектах. Методическая рекомендация.- Ташкент, 2007.- 10 с.

22. Алиходжаева М.И., Бекчанов Х.Н., Таджиев М.А. Определение этакриновой кислоты в биологических объектах. Методическая рекомендация.- Ташкент, 2007.- 9 с.

23. Алиходжаева М.И., Таджиев М.А., Попков В.А. Определение триамтерена и гидрохлортиазида в комбинированных лекарственных средствах и биологических объектах. Методическая рекомендация.- Ташкент, 2008.- 12 с.

в) илмий ишлар тўплами ва халқаро, республика конференциялар материалларида чоп этилган ишлар

24. Фуросемидни масс-спектрометрик усул ёрдамида аниқлаш / Алиходжаева М.И., Убайдуллаев К.А., Икромов Л.Т, Шохидоятов Х.М.

//Суд экспертиза ютуқлари ва ривожланиш истиқболлари.-Тошкент, 2001.- Б. 127-128.

25. Алиходжаева М.И., Саидвалиев А.К., Икромов Л.Т. Ориентировочное распределение фуросемида во внутренних органах отравленных животных // Сборник материалов XI Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- Москва, 2004.- С. 497-498.

26. Алиходжаева М.И., Бекчанов Х.Н., Таджиев М.А. Идентификация и количественное определение гидрохлортиазида методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Научн.-практ. конф. «Интеграция образования, науки и производства в фармации».-Ташкент, 2005.- С. 115-116.

27. Алиходжаева М.И., Рихсибоева М.О. Этакрин кислотани биологик объектларда аниқлаш // Матер. Респ. Науч.-практ. конф. «Новые достижения в получении, изучении и применении лекарственных средств на основе природного сырья».- Ташкент, 2006.- С.64

28. Алиходжаева М.И., Алиев А., Таджиев М.А. Определение гидрохлортиазида в биологических жидкостях // Узбекистонда суд экспертизанинг ривожланиш истикболлари.: Матер. науч.-практ. конф.- Ташкент, 2006.- С. 164-166.

29. Алиходжаева М.И., Бекчанов Х.Н. Обнаружение диакарба методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Современные аспекты судебно-медицинской экспертизы и криминалистики: Тезисы докладов Респ. науч.-практ. конф.-Ташкент, 2006.- С. 215-216.

30. Алиходжаева М.И. Разработка метода изолирования адельфан-эзидрекса из биологического материала // Сборник материалов конгресса XIII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».- Москва, 2006.- С. 489.

31. Алиходжаева М.И., Рахметбаева К. Ацетазоламидни сувли эритмаларидан экстракция жараёнига pH муҳити ва органик эритувчи табиатининг таъсири //«Табиий хом ашёлар асосида дори воситаларининг олиниши, таҳлили ва қўлланилишидаги ютуқлар» мавзусидаги Республика илмий амалий анжуман материаллари.- Тошкент, 2006.- Б. 98.

32. Алиходжаева М.И., Рихсибаева М.О., Таджиев М.А. Определение этакриновой кислоты в биологических жидкостях //«Современные аспекты судебно-медицинской экспертизы и криминалистики», Республиканская научно-практическая конференция.-Ташкент, 2006.- С. 206-207.

33. Алиходжаева М.И Сохраняемость фуросемида при гнилостном разложении биологического материала // «Табиий хом ашёлар асосида дори воситаларининг олиниши, таҳлили ва қўлланилишидаги ютуклар» мавзусидаги Республика илмий-амалий анжуман материаллари.- Тошкент, 2006.- Б. 65.

34. Алиходжаева М.И. Дори воситаларининг, хусусан пешоб ҳайдовчи дори воситаларининг ҳомиладор аёлларга таъсири // Ўзбекистон тиббиёти тараққиётида олима аёлларнинг ўрни.-Тошкент, 2007.- Б. 39-41.

35. Алиходжаева М.И. Изолирование, обнаружение и количественное определение этакриновой кислоты из биологического материала //Ўзбекистон

Республикасининг экспертлик хизмати: натижалар ва ривожланиш йўналишлари. Республика идораларо илмий-амалий конференция материаллари.- Тошкент, 2007.- Б.77-80.

36. Алиходжаева М.И. Разработка метода изолирования ацетазоламида из биологического материала // Сборник материалов XIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- Москва, 2007.- С. 640-641.

37. Алиходжаева М.И., Мухитдинов С.М. Триамтеренни биологик материалдан ажратиб олиш усулини ишлаб чиқиш // Тошкент фармацевтика институтининг 70 йиллигига бағишланган «Фармацияда таълим, фан ва ишлаб чиқариш интеграцияси» мавзусидаги илмий – амалий анжуман материаллари.- Тошкент, 2007.- Б. 117-118.

38. Алиходжаева М.И., Ниязов А.А., Таджиев М.А. Разработка условий анализа триамтерена и гидрохлортиазида методом тонкослойной хроматографии // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации», посвященной 70-летию Ташкентского фармацевтического института.-Ташкент, 2007.- С. 116-117.

39. Алиходжаева М.И. Анализ диуретиков, применяемых в комбинации антигипертензивными препаратами // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации», посвященной 70-летию Ташкентского фармацевтического института.- Ташкент, 2007.- С.119-120.

40. Алиходжаева М.И., Тулаганов Б., Таджиев М.А. Этакрин кислота препарати билан ўткир заҳарланишда уни лаборатория ҳайвонлари ички аъзоларига тарқалишини ўрганиш // Тошкент фармацевтика институтининг 70 йиллигига бағишланган «Фармацияда таълим, фан ва ишлаб чиқариш интеграцияси» мавзусидаги илмий – амалий анжуман материаллари.- Тошкент, 2007.- Б. 264-265.

41. Алиходжаева М.И., Попков В.А. Определение синтетических диуретиков методом газо-хромато-масс-спектрометрии // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации».- Ташкент, 2008.- С.262.

42. Алиходжаева М.И., Пардаева М., Маматкулов З.У. ТСХ-скрининг синтетических диуретических лекарственных средств // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации».- Ташкент, 2008.- С.262 – 263.

Фармацевтика фанлари доктори илмий даражасига талабгор Алиходжаева Мадина Ильясовнанинг 15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия ихтисослиги бўйича «Химико-токсикологическое исследование диуретических лекарственных средств» мавзусидаги диссертациясининг

Р Е З Ю М Е С И

Таянч (энг муҳим) сўзлар: диуретик дори воситалари, ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид, 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота, триамтерен, адельфан-эзидрекс, кимё-токсикологик таҳлил, биологик объектлардан ажратиб олиш, ЮҚХ, УБ-, ИҚ-спектрофотометрик, масс- ва ЯМР-спектроскопия, ТДСИС, ЮССХ, ГСХ, ГХ-МС, термодинамик усуллар, экстракция, метаболизм, метаболитлар, биологик суюқлик ва обеъктлар.

Тадқиқот объектлари: ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид, 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота, триамтерен, адельфан-эзидрекс, биологик объектлар (жигар, буйрак, ошқозон ва б.қ.) ва биологик суюқликлар (қон, пешоб, ошқозон чайинди сувлари).

Ишнинг мақсади: диуретик дори воситаларини кимё – токсикологик текширишда ва уларнинг сифатини назорат қилишда илмий асосланган, ҳамда методологик ёндашувини ишлаб чиқиш ва олинган натижаларни Ўзбекистон Республикасининг соғлиқни сақлаш амалиётига татбиқ этишдан иборат.

Тадқиқот методлари: диуретик дори воситаларини (ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакрин кислота, спиронолактон, фуросемид, 4-хлор-5-сульфамоилантранил кислота, триамтерен, адельфан-эзидрекс) турли биологик объектлардан ажратиб олиш ва таҳлил усуллари: ЮҚХ, УБ-, ИҚ-спектрометрия, масс-, ЯМР-спектроскопия, ТДСИС, ЮССХ, ГСХ, ГХ-МС, термик усуллар.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: диуретик дори воситаларининг сифатини назорат қилиш учун такомиллаштирилган сезгир ва ҳусусий таҳлил услублари тавсия этилди. Ишлаб чиқилган таҳлил усуллари турли биологик объектлар текширувини олиб боришда татбиқ этилди ва лаборатория ҳайвонларида олиб борилган тажрибалар таҳлилида, ҳамда юрак етишмовчилиги билан ҳасталанган беморларнинг қон ва пешоб таҳлилларида қўллаб кўрилди.

Амалий аҳамияти: ишлаб чиқилган услублар турли биологик объект ва суюқликлардан диуретик дори воситаларини ажратиб олиш ва таҳлил қилиш бўйича тузилган услубий тавсияномаларга асос қилиб олинди. Ушбу услубий тавсияномалар Ўзбекистон Республикасидаги барча суд-кимё лабораториялар амалиётига, «Универсал фарм» корхонасининг кимё лабораториясига, Тошкент фармацевтика институтининг ва Россия Халқлар дўстлиги университетининг фармацевтик ва токсикологик кимё кафедраларида ўқув жараёнига татбиқ этилди.

Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: ишлаб чиқилган услубий қўлланмалар Ўзбекистон Республикаси ССВ суд-тиббий экспертиза Бош бюроси, Тошкент шаҳар бюроси ва барча вилоят бюроларининг суд- кимё бўлимлари амалиётида қўллаш учун татбиқ этилди. Ушбу усулларнинг қўлланилиши диуретик дори воситаларидан заҳарланишларнинг олдини олишда, юрак етишмовчилиги касаллигини даволашда диуретик дори воситаларидан самарали фойдаланишда, ҳамда шу препаратлар таҳлилида иш вақтининг қисқаришига ва сарф-ҳаражатларнинг камайишига имкон беради.

Қўлланиш соҳаси: токсикологик кимё, суд-кимё, криминалистик ва допинг-назорат, назорат – аналитик лабораториялари.

Р Е З Ю М Е

диссертации Алиходжаевой Мадины Ильясовны на тему: «Химико-токсикологическое исследование диуретических лекарственных средств» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

Ключевые слова: диуретические лекарственные средства, ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакриновая кислота, спиронолактон, фуросемид, 4-хлор-5-сульфамоилантраниловая кислота, триамтерен, адельфан-эзидрекс, химико-токсикологический анализ, выделение из биологических объектов, ТСХ, УФ-, ИК-спектрофотометрия, масс- и ЯМР-спектроскопия, ТДПИС, ВЭЖХ, ГЖХ, ГХ-МС, термодинамические методы, экстракция, метаболизм, метаболиты, биологические жидкости и объекты.

Объекты исследования: ацетазоламид, гидрохлортиазид, этакриновая кислота, спиронолактон, фуросемид, 4-хлор-5-сульфамоилантраниловая кислота, триамтерен, адельфан-эзидрекс, биологические объекты (печень, почки, желудок с содержимым и др.) и биологические жидкости (кровь, моча, промывные воды желудка).

Цель работы: разработка научно-обоснованного и методологического подхода к химико-токсикологическому исследованию и контролю качества диуретических лекарственных средств и внедрение полученных результатов в практическое здравоохранение Республики Узбекистан.

Методы исследования: изолирование диуретических лекарственных средств (ацетазоламида, гидрохлортиазида, этакриновой кислоты, спиронолактона, фуросемида, 4-хлор-5-сульфамоилантраниловой кислоты, триамтерена, адельфан-эзидрекса) из различных объектов, и методы исследования: ТСХ, УФ-, ИК-спектрофотометрия, масс- и ЯМР-спектроскопия, ТДПИС, ВЭЖХ, ГЖХ, ГХ-МС, термические методы.

Полученные результаты и их новизна: разработаны и рекомендованы чувствительные, селективные методы анализа диуретических лекарственных средств, позволяющие обнаруживать и определять их в различных объектах.

Разработанные методики апробированы в опытах на различных биологических объектах и лабораторных животных, а также при проведении анализов крови и мочи у больных хронической сердечной недостаточностью.

Практическая значимость: разработанные методики легли в основу методических рекомендаций по выделению и анализу диуретических лекарственных средств из биологических жидкостей и биологических объектов, которые направлены в судебно-химические лаборатории Республики Узбекистан. Они внедрены в учебный процесс на кафедрах фармацевтической и токсикологической химии Ташкентского фармацевтического института, а также Российского университета дружбы народов.

Степень внедрения и экономическая эффективность: разработанные методические рекомендации по анализу диуретических лекарственных средств внедрены в практику судебно-химических отделов Главного Бюро судебно-медицинской экспертизы Республики Узбекистан, г.Ташкента и других областей. Использование методик анализа диуретических лекарственных средств в биологических жидкостях дают возможность рационального использования этих препаратов при лечении больных хронической сердечной недостаточностью, своевременно оказать помощь при отравлении ими, а также сокращают рабочее время и затраты на проведение химико-токсикологических и судебно-химических исследований на диуретических лекарственных средств.

Область применения: токсикологическая химия, судебно-химические, криминалистические, контрольно-аналитические и допинг-контроль лаборатории.

RESUME

Thesis of Madina Ilyasovna Alikhodjaeva on the scientific degree competition of the doctor of pharmaceutical sciences in speciality 15.00.02-pharmaceutical chemistry and pharmacognosy; subject “Chemico-toxicological study of diuretics”

Key words: diuretics, acetazolamide, hydrochlorothiazide, ethacrynic acid, spironolacton, furosemide, 4-chlor-5-sulfamoilanthranylic acid, triamterene, adelphan-ezidrex, chemico-toxicological analysis, isolation from biological matrices, TLC, UV, IR-spectrophotometry, mass- and MMR-spectoscopy, GC-MS, thermodynamic methods, extraction, metabolism, metabolites, biological liquids (blood, urine, stomach water).

Subjects of the inquiry: acetazolamide, hydrochlorothiazide, ethacrynic acid, spironolacton, furosemide, 4-chlor-5-sulfamoilanthranylic acid, triamterene, adelphan-ezidrex, biological matrices or subjects (liver, kidneys, stomach with contents, etc.) and biological liquids (blood, urine, stomach water).

Aims of the inquiry: development of scientifically motivated and methodological approach to chemico-toxicological study and diuretics quality control and obtained results adoption in practical medicine of the Republic of Uzbekistan

Method of inquiry: isolation of diuretics (acetazolamide, hydrochloro-thiazide, ethacrynic acid, spironolacton, furosemide, 4-chlor-5-sulfamoilanthranylic acid, triamterene, adelphan-ezidrex) from different matrices and TLC, UV-, IR-spectrophotometry, mass- and NMR- spectroscopy, TDSIS, HPLC, GLC, GC-MS, thermal methods.

The results achieved and their novelty: the sensitive and selective methods for diuretics analysis have been developed and recommended. They allow detecting and determining them in different subjects. The elaborated techniques were given a trial on various biological matrices and in vivo experiments as well as in blood, urine tests at patients with cardial insufficiency.

Practical value: the developed techniques became a base for some methodical recommendations on isolation and assay of diuretics from biological liquids. Afterwards they were directed to forensic-chemical laboratories of the Republic of Uzbekistan and were introduced in the educational process at the chairs of the pharmaceutical and toxicological chemistry of the Tashkent Pharmaceutical Institute and Russian University of People's Friendship.

Degree of embed and economic effectivity: the developed methodical recommendations on diuretics analysis have been introduced in practice of the forensic-chemical departments under the Head Bureau for medico-legal examination of the Republic of Uzbekistan, the city of Tashkent and other regions. Usage of these techniques for analysis of diuretics in the biological liquids gives an opportunity of the above mentioned preparations rational application for treatment of the patients with chronic cardiac insufficiency and also for giving medical care while poisoning with them. The indicated methods reduce working time and expenditures for carring out forensic-chemical and chemico-toxicological investigations on diuretics.

Sphere of usage: toxicological chemistry, forensic-chemical, criminalistic, control-analytical and also doping-control laboratories.