

## О СТАНДАРТИЗАЦИИ ПРОПОЛИСА

Запорожский медицинский институт

Поступила 4/1 1977 г.

Продукты пчеловодства, в частности прополис, как сообщалось ранее [1, 2], представляют определенный интерес в качестве доступного источника получения и производства эффективных биологически активных препаратов.

Широкий спектр терапевтической активности прополиса [3—6], по данным советских и зарубежных ученых (применение в офтальмологии, гинекологии, дерматологии, ЛОР-практике, при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта и т. д.), объясняется наличием в его составе в качестве характерных неотъемлемых компонентов, определяющих направленность действия, целого комплекса биологически активных соединений, присутствующих практически постоянно независимо от района обитания, места сбора и породы пчел.

В настоящее время с лечебной и профилактической целью применяются некоторые лекарственные формы, в состав которых входит прополис, получаемые самыми разнообразными методами [7—10]. Наряду с этим установлено, что содержащийся в составе прополиса воск в известной степени изолирует его бактерицидные и другие терапевтически активные вещества от объектов воздействия [11].

В связи с этим применяемые в настоящее время лекарственные средства, в состав которых входит прополис, за некоторым исключением, на наш взгляд, требуют более существенных технологических разработок на основе теоретических, физико-химических и фармакологических исследований. В предлагаемых технологических операциях приготовления тех или иных лекарств авторы не обосновывают даже выбор концентрации прополиса с учетом содержания восков, механических примесей, смолистых, липоидных и других низко- и высокомолекулярных веществ, тогда как только определенное количественное содержание в лекарственных формах очищенного от сопутствующих компонентов пчелиного клея может давать лечебный эффект.

В соответствии со сказанным, а также в связи с тем, что в настоящее время заметно расширилась область и возможность использования прополиса не только в медицине, но и в других областях народного хозяйства, целью настоящей работы были разработка и научное обоснование методов его стандартизации.

В основу существующих технических условий, РТУ УССР 2115-62, РТУ РСФСР 8028-64, МРТУ Латвийской ССР 42-71, РСТ РСФСР 317-73 были положены данные органолептического анализа, некоторые физико-химические свойства и показатели, которые, как правило, сравнительно поверхностно отражают качественный состав прополиса. Однако константы, характеризующие наиболее важные физико-химические и биологические свойства прополиса, не нашли, на наш взгляд, отражения в указанных работах. Вместе с тем эти константы могут служить основой для разработки методов количественного анализа биологически активных веществ как в прополисе-сырце, так и в лекарственных формах, приготовленных на его основе. Имеющиеся методы стандартизации прополиса несовершенны и в фармацевтическом аспекте, так как представляющие организации разрабатывали их, очевидно, без учета использования данного природного лекарственного сырья в медицинской практике.

## Экспериментальная часть

Исследованы 19 образцов прополиса и их 10% спиртовые извлечения.

**Получение спиртового извлечения.** 0,5 г (точная навеска) измельченного прополиса (цито № 50, ГОСТ 214-57) помещали в склянку с притертой пробкой, заливали 50 мл 95% спирта и настаивали при комнатной температуре и периодическом перемешивании в течение 6 сут с последующей фильтрацией.

Для полученных извлечений были определены следующие физико-химические характеристики: удельная электропроводность, показатель преломления, поверхностное натяжение, рН, а для исходного сырья — кислотное число, йодное число, перекисное число, число омыления, окисляемость и изучен качественный состав на наличие биологически активных веществ с помощью хроматографического анализа. Результаты исследований приведены в табл. 1—3.

Измерение удельной электропроводности проводилось в ячейке с электродами из платинированной платины при температуре  $25 \pm 0,05^\circ\text{C}$ . Постоянная сосуда составляла 0,480. Исследования проводились при помощи моста переменного тока Р-568 с частотой 1000 Гц.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что величина удельной электропроводности для всех исследуемых образцов прополиса незначительна (порядка  $10^{-4} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ). Этот факт указывает на то, что лишь небольшая часть химических веществ, входящих в состав прополиса, находится в растворе в ионизированном состоянии. Отклонения величин удельной электропроводности для различных образцов прополиса существенных раз-

Таблица I

Физико-химическая характеристика 10% спиртовых извлечений из разных образцов прополиса

№	Место сбора прополиса (область)	Удельная электропроводность $\kappa \cdot 10^{-6} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{X}$ $\text{X}_{\text{см}}$	Показатель преломления $n_D^{20}$	Поверхностное натяжение $\sigma$ , дин/см	рН
1	Харьковская (УССР)	7,22±0,05	1,3646	23,630±,30	6,16±0,02
2	Ошская (Киргизская ССР)	13,28±0,10	1,3645	24,02±0,28	6,49±0,00
3	Полтавская (УССР)	8,48±0,12	1,3650	23,38±0,00	6,37±0,01
4	Одесская (УССР)	15,60±0,20	1,3652	23,63±0,30	6,39±0,00
5	Могилевская (БССР)	13,43±0,11	1,3642	23,50±0,20	6,10±0,01
6	Киевская (УССР)	8,21±0,06	1,3641	23,88±0,20	6,15±0,00
7	Ростовская (РСФСР)	6,54±0,12	1,3648	24,00±0,00	5,95±0,01
8	Крымская (УССР)	9,58±0,11	1,3642	23,88±0,20	6,16±0,01
9	Кировоградская (УССР)	8,55±0,11	1,3642	23,75±0,30	6,25±0,00
10	Ивановская (РСФСР)	10,26±0,07	1,3647	23,50±0,20	6,43±0,01
11	Мвсковская (РСФСР)	5,68±0,04	1,3648	23,50±0,20	5,88±0,01
12	Тамбовская (РСФСР)	6,74±0,19	1,3650	23,50±0,20	6,02±0,00
13	Рижская (Латвийская ССР)	5,67±0,05	1,3645	23,38±0,00	6,01±0,01
14	София (Болгария)	7,53±0,05	1,3649	23,63±0,30	6,11±0,01
15	Черниговская (УССР)	7,22±0,05	1,3652	24,15±0,24	6,11±0,01
16	Днепропетровская (УССР)	10,56±0,26	1,3650	24,02±0,28	6,42±0,01
17	Запорожская (УССР)	7,24±0,04	1,3641	23,88±0,20	6,30±0,01
18	Житомирская (УССР)	8,70±0,04	1,3645	23,38±0,00	6,36±0,01
19	Курская (РСФСР)	8,21±0,06	1,3655	23,88±0,20	6,13±0,00
Средние значения		8,88±0,20	1,3647	23,71±0,21	6,20±0,15
Спирт этиловый 95%			1,3635	24,29±0,35	9,61±0,00

Физико-химические показатели различных образцов прополиса

№ образца	Кислотное число, мг КОН	Йодное число, % $J_2$	Перекисное число, % $J_2$	Число омыления, мг КОН
1	43,17±0,26	26,10±0,18	0,02±50,001	170,20±3,10
2	41,23±0,28	24,61±0,50	0,03±60,002	162,77±5,52
3	42,26±0,28	25,09±0,14	0,02±70,002	171,10±2,80
4	38,18±0,20	18,48±0,20	0,01±40,004	163,74±2,60
5	36,62±0,22	25,69±0,30	0,02±80,002	179,36±3,12
6	44,88±0,56	24,86±0,26	0,02±80,005	158,98±4,20
7	39,92±0,26	22,72±0,17	0,03±10,001	164,56±2,00
8	38,28±0,20	19,10±0,20	0,01±60,002	162,38±1,78
9	42,47±0,28	30,58±0,38	0,01±20,003	166,90±1,40
10	41,87±0,20	27,41±0,28	0,02±90,001	178,29±3,60
11	40,24±0,31	24,82±0,31	0,04±10,001	162,31±2,32
12	43,32±0,23	23,34±0,26	0,11±00,003	194,94±4,20
13	41,17±0,28	19,27±0,50	0,03±70,001	185,13±5,61
14	32,20±0,22	16,04±0,00	0,01±20,001	159,88±2,80
15	40,95±0,00	28,24±0,64	0,164±0,001	190,74±0,00
16	41,18±0,21	29,19±0,00	0,03±20,002	201,96±5,61
17	33,45±0,20	32,51±0,23	0,054±0,005	189,33±9,82
18	45,06±0,28	29,06±0,89	0,03±40,002	168,11±2,60
19	38,70±0,56	17,30±0,06	0,030±0,001	190,70±3,12
Средние значения	40,27±0,27	24,21±0,29	0,040±0,002	174,80±3,49

личий не имеют, максимальное значение удельной электропроводности  $15,6 \cdot 10^{-5} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  (образец № 4), минимальное —  $5,67 \cdot 10^{-5} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  (образец № 13).

Показатель преломления спиртовых извлечений прополиса ( $n_D^{20}$ ) определяли на рефрактометре ИРФ-22. Для этилового спирта  $n_D^{20}$  составил 1,3635. Наличие в спирте экстрактивных веществ из прополиса повышает  $n_D^{20}$  до  $1,3647 \pm 0,00035$  (среднее значение для 19 образцов). Максимальное значение  $n_D^{20}$  составляет 1,3655 (образец № 19), минимальное — 1,3641 (образцы № 6, 17). Таким образом, почти все исследованные образцы имеют величину  $n_D^{20}$  в пределах среднего значения.

Величина поверхностного натяжения позволяет судить об адсорбции химических соединений на поверхности раздела фаз, что является одним из критериев оценки степени всасываемости лекарственных препаратов в ткани организма независимо от путей их введения.

Поверхностное натяжение ( $\sigma$ ) измеряли по методу Ребиндера. Измеренное значение поверхностного натяжения этилового спирта, растворителя исследуемых настоек, находилось в пределах  $24,29 \pm 0,35$  дин/см. Результаты анализа показывают, что экстрактивные вещества, извлеченные этанолом из прополиса, снижают поверхностное натяжение в настойках до  $23,71 \pm 0,212$  дин/см. Максимальное значение поверхностного натяжения  $24,15 \pm 0,236$  дин/см (образец № 15), минимальное — 23,38 дин/см (образец № 3, 13, 18). Для большинства образцов прополиса изучаемый показатель стандартности находится в пределах средней величины.

Активность ионов водорода также имеет большое значение для выяснения физико-химической природы компонентов, входящих в состав того или иного лекарственного сырья, и может служить показателем оценки его стандартности, что, на наш взгляд, особенно важно для разработки технологических регламентов выделения биологически активных суммарных препаратов из прополиса-сырца.

Основные составные компоненты прополиса (в %)

№ образца	Экстрактивные вещества	Величина окисляемости (жирные кислоты)	Смоло-бальзамический комплекс	Воски	Полифенолы	Полисахариды	Механические при- месы
1	20,31±0,14	21,06±0,24	47,00±0,20	32,40±0,53	10,73±0,44	2,13±0,11	7,81±0,24
2	21,79±0,36	2,57±0,76	53,90±0,26	20,33±0,58	14,66±0,31	1,82±0,11	9,32±0,30
3	21,80±0,28	8,26±0,95	49,30±0,46	28,40±0,60	14,21±0,36	2,40±0,07	6,73±0,19
4	26,04±0,18	3,60±0,73	61,83±0,49	13,23±1,02	14,60±0,80	2,00±0,13	8,42±0,38
5	18,98±0,97	21,52±1,08	43,70±0,87	29,32±0,57	13,90±0,80	1,91±0,10	11,21±0,26
6	20,92±0,25	20,73±0,62	21,10±1,20	55,60±0,87	12,00±0,33	2,24±0,12	9,10±0,26
7	24,17±0,13	23,42±0,53	47,22±0,64	31,43±0,62	11,21±0,70	1,71±0,11	8,57±0,29
8	22,86±0,17	5,66±0,10	56,41±0,51	2,70±0,63	17,33±0,78	2,07±0,09	11,51±0,30
9	21,58±0,33	21,00±0,80	36,00±0,73	39,36±0,62	11,82±0,83	2,32±0,07	10,62±0,45
10	16,86±0,28	19,70±0,73	46,48±0,33	28,21±0,69	14,06±0,38	2,67±0,10	8,73±0,12
11	26,49±0,23	15,66±0,49	45,13±0,78	25,90±0,53	18,60±0,73	2,40±0,08	8,01±0,11
12	20,18±0,26	14,83±0,64	32,30±0,93	34,51±0,57	16,30±0,73	3,83±0,73	13,10±0,12
13	16,92±0,26	17,90±0,60	42,92±0,51	27,10±0,13	15,52±0,52	2,21±0,09	12,32±0,63
14	22,52±0,39	9,07±0,56	50,96±0,85	21,73±0,71	17,10±0,53	1,93±0,08	8,41±0,48
15	21,97±0,40	19,73±0,58	53,33±0,44	26,80±0,73	11,73±0,62	1,72±0,10	6,53±0,43
16	26,27±0,37	22,30±0,03	51,06±0,65	20,10±0,33	18,42±0,21	2,01±0,06	8,51±0,55
17	19,32±0,37	20,86±0,89	25,80±0,47	47,63±0,71	10,12±0,57	2,61±0,05	14,22±0,36
18	21,14±0,17	25,40±0,60	58,40±0,20	9,30±0,53	19,40±0,53	2,34±0,02	10,30±1,00
19	23,88±0,17	21,36±0,38	47,73±0,56	21,00±0,46	16,83±0,58	2,54±0,05	12,10±0,45
Средние значения	21,95±2,22	17,08±5,52	46,18±7,15	27,11±7,68	14,66±2,34	2,26±0,32	9,76±1,81

Качественный состав полифенолов прополиса

Измерение рН спиртовых настоек прополиса производили на приборе ЛПМ-60М при помощи индикаторного стеклянного электрода без учета диффузионного потенциала, возникающего на границе раздела вода — спирт. Среднее значение рН составило  $6,20 \pm 0,15$ , максимальное —  $6,49 \pm 0,00$  (образец №2), минимальное —  $5,88 \pm 0,006$  (образец № 11).

Последующими исследованиями физико-химических свойств прополиса по определению показателей его стандартности установлено, что кислотное число равно  $40,27 \pm 0,27$ , йодное число —  $24,21 \pm 0,29$ , перекисное число —  $0,40 \pm 0,00$ , число омыления —  $174,80 \pm 3,49$ .

Наряду с этим мы сочли целесообразным определить в исследуемых образцах прополиса группы биологически активных соединений, а также сопутствующие вещества (механические примеси и т.д.). Анализ проводился по разработанной нами методике [12,13] с учетом требований ГФХ.

На основании полученных данных к стандартному сырью можно отнести прополис, имеющий следующие показатели содержания в его составе основных компонентов: экстрактивные вещества —  $21,95 \pm 2,22\%$ , величина окисляемости (жирные кислоты) —  $17,08 \pm 5,52\%$ , смоло-бальзамические вещества —  $46,18 \pm 7,15\%$ , восков —  $27,11 \pm 7,68\%$ , полифенолы —  $14,6 \pm 62,34$ , полисахариды —  $2,26 \pm 0,32\%$ , механические примеси —  $9,76 \pm 1,81\%$ .

Установив, что противовоспалительные, противомикробные, регенерирующие свойства прополиса определяют полифенольные соединения, мы разработали методы их выделения в виде суммарных препаратов с последующим исследованием качественного состава. С помощью хроматографии на полиамидном сорбенте и препаративной на бумаге в исследуемых образцах прополиса доказано наличие 27—38 соединений фенольной природы.

Идентификацию индивидуальных веществ проводили с помощью одно- и двумерной хроматографии на бумаге, качественными реакциями, методами УФ- и ИК-спектроскопии в сравнении с некоторыми достоверными образцами. Результаты исследования представлены в табл. 4.

В развитие биологических методов стандартизации совместно с сотрудниками лаборатории Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля лекарственных средств Министерства здравоохранения СССР изучается противомикробная активность спиртовых настоек прополиса. В настоящее время установлено, что противомикробное

№ об- разца	Число компонентов				всего
	Флавоноиды	Оксику марины	Фенолкар- боновые кислоты	Флава нолы, галаты	
1	15	4	8	5	32
2	14	2	7	4	27
3	13	3	5	8	29
4	16	4	8	7	35
5	14	4	7	5	30
6	14	5	9	6	34
7	15	4	8	7	34
8	17	4	9	8	38
9	14	4	7	7	32
10	14	3	6	8	31
11	15	3	7	5	30
12	15	3	7	8	33
13	13	2	8	4	27
14	13	3	7	6	29
15	15	4	7	3	29
16	14	4	6	5	29
17	13	3	7	8	31
18	15	4	8	6	34
19	14	4	6	7	31
	13—15	2—5	5—9	3—8	27—38

Примечание. Система растворителей — бутанол — уксусная кислота — вода (4 : 1 : 2) — I направление, 15% уксусная кислота — II направление; проявители — 1% раствор алюминия хлорида в метаноле, 3% водный раствор хлорида железа, 10% раствор едкого натра в 50% метанола + 2% перекиси водорода, 2% раствор хлорокиси цирконии в метаноле + пары аммиака, 0,3% раствор диазотированной сульфаниловой кислоты (реактив Паули).

действие исследуемых образцов практически идентично. Работа в данном направлении продолжается.

ЛИТЕРАТУРА. 1. Иванов Д. Ф., Тихонов А. И. и др. — «Офтальмол. ж.», 1973, № 2, с. 104—108. — 2. Тихонов А. И., Сало Д. П. и др. — «Фармацевтический ж.», 1975, № 3, с. 42—46. — 3. Кивалкина В. П. Прополис, его антимикробные и лечебные свойства. Автореф. дис. докт. Казань, 1964. — 4. Кравчук П. А. О применении прополиса для лечения хронического субатрофического и атрофического фарингита. Автореф. дис. канд. Киев, 1971. — 5. Оркин В. Ф. Терапевтическая эффективность прополиса при глубоких пиодермитах. Автореф. дис. канд. Саратов, 1971. — 6. Шамрай Т. Е. Применение прополиса при лечении осложненных трепанационных полостей после радикальной операции тимпанопластики. Автореф. дис. канд. Киев, 1974. — 7. Танащенко Ю. С. — «Педиатрия», 1971, № 6, с. 78—82. — 8. Макаров Ф. Д. — «Врач, дело», 1972, № 4, с. 93—95. — 9. Филатов В. Ф., Шамрай Т. Е. Применение прополиса в оториноларингологии (Методические рекомендации). Харьков, 1973. — 10. Марченко А. И., Митина В. И., Давыдова Л. А. — В кн.: Проблемы терапевтической стоматологии. Вып. 5. Киев, 1970, с. 117—120. — 11. Келлер Р. Э., Прудниченко Е. К. — Тезисы докладов 2-й Ленинградской научной конференции по применению продуктов пчеловодства в медицине и ветеринарии. Л., 1960, с. 53—54. — 12. Тихонов А. И., Кривейчук П. Е. — «Открытия», 1973, № 14, № 395087. — 13. Тихонов А. И. — Там же, 1975, № 12, № 484871.