

№2 (64)
2014

ВЕСТНИК ФАРМАЦИИ



ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Научно-практический ежеквартальный рецензируемый журнал

ВЕСТНИК ФАРМАЦИИ

основан в 1997 году

Учредитель – Учреждение образования "Витебский государственный ордена
Дружбы народов медицинский университет"

Редакционная коллегия

Бузук Г.Н. (*зам. главного редактора*), Генералов И.И., Глембоцкая Г.Т. (Москва), Гурина Н.С. (Минск), Дейкало В.П., Дорофеева Т.А., Жебентяев А.И., Жерносек А.К., Игнатъева Е.В., Кевра М.К. (Минск), Козловский В.И., Конорев М.Р. (*зам. главного редактора*), Криштопов Л.Е., Кугач В.В. (*главный редактор*), Кунцевич З.С., Куркин В.А. (Самара), Пиманов С.И., Покачайло Л.И., Сачек М.М., Сушков С.А. (*зам. главного редактора*), Трухачева Т.В., Фадеев В.И., Хейдоров В.П., Хуткина Г.А., Царенков В.М. (Минск), Чуешов В.И. (Харьков), Эльяшевич Е.Г. (Минск).

Редакционный совет

Боковицова Т.Н. (Москва), Бурак И.И., Войтехович Ю.Б., Гапанович В.Н. (Минск), Глушанко В.С., Глушнев А.Н. (Гомель), Гнитий В.А. (Брест), Годовальников Г.В. (Минск), Гореньков В.Ф. (Минск), Дубовик Б.В. (Минск), Жарков Л.В. (Минск), Залесский В.Е. (Минск), Игнатенко В.С. (Могилев), Ковальчук И.Е. (Минск), Коневалова Н.Ю., Косинец А.Н., Краснюк И.И. (Москва), Масленкина О.В. (Минск), Ламан Н.А. (Минск), Наркевич И.А. (Санкт-Петербург), Рахманько Е.М. (Минск), Реутская Л.А. (Минск), Сосонкина В.Ф. (Минск), Фурса Н.С. (Ярославль), Шеряков А.А. (Минск), Яремчук А.А. (Минск).

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство №112 от 12.03.2009г.

ISSN 2074-9457

ОГЛАВЛЕНИЕ

СТР.

ОРГАНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ДЕЛА

В.В. Кузач, Т.Л. Петрище, А.С. Ковальчук
ОПТИМИЗАЦИЯ ОЧЕРЕДЕЙ В АПТЕКЕ 5

В.В. Кузач, М.А. Валужева
ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ
ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ
ДЛЯ ГИНЕКОЛОГИИ 10

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

Т.Д. Карапетян, В.С. Мирзоян, Р.М. Анисян
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ФИТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
ЛИСТЬЕВ АБРИКОСА *ARMENIACA VULGARIS L. (ROSACEA)* 14

О.А. Ёришик, Г.Н. Бузук
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МЕХАНОХИМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ СЫРЬЯ
НА ЭКСТРАКЦИЮ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ И ТЕКСТУРУ
КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО..... 19

Н.А. Кузьмичева
ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ ГРУШАНОК 26

В.А. Куркин, Т.К. Рязанова
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ТОЛОКНЯНКИ,
БРУСНИКИ И ЧЕРНИКИ32

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ

Е.А. Рубан, С.А. Куценко, О.В. Кутовая, И.В. Ковалевская
ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАСТОЙКИ «ВЕНОТОН» 37

В.А. Шевченко, В.С. Бондарь, С.Н. Ролик, А.И. Квитчатая
РАЗРАБОТКА СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ОРАЛЬНОГО
ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ L-ОРНИТИНА L-АСПАРТАТА 41

В.И. Гриценко
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭМУЛЬГАТОРОВ НА ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА СУППОЗИТОРИЕВ С ТАМСУЛОЗИНА ГИДРОХЛОРИДОМ 45

С.Б. Сеткина, О.М. Хишова, Л.В. Зубкевич, А.Каплин, Е.Каплина
ВЛИЯНИЕ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
НА СТАБИЛЬНОСТЬ ВОСПРОИЗВЕДЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ КЛОПИДОГРЕЛЯ 50

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

И.Л. Комарицкий, О.М. Хишова, Н.Ю. Бевз, В.А. Георгиянц
РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АМЛОДИПИНА БЕСИЛАТА МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ 59

Ю.Н. Жук, С.А. Васюк
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОПРОЛОЛА
ТАРТРАТА В ТАБЛЕТКАХ64

С.Л. Федорук, Т.В. Трухачева, К.А. Фроленков, В.П. Хейдоров
ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМО- И ФОТОДЕСТРУКЦИИ ХЛОРИНА E6
И ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ФОТОЛОН 70

С.Л. Федорук, Т.В. Трухачева, К.А. Фроленков, В.П. Хейдоров
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЭКСКЛЮЗИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК
ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ ФОТОЛОН 77

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

И.В. Шилова, Н.И. Суслов
НООТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА НАДЗЕМНОЙ
ЧАСТИ ЛАБАЗНИКА ОБЫКНОВЕННОГО 84

С.Ю. Штрыголь, С.М. Дроговоз, М.В. Зупанец, А.В. Кононенко
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ
СРЕДСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ 89

ОБЗОРЫ

Е.А. Дикусар, В.И. Поткин, Н.Г. Козлов, Д.А. Рудаков, С.Г. Стёпин
ФАРМАКОФОРНЫЕ СОЛИ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ И АМИНОВ:
СИНТЕЗ, СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
СООБЩЕНИЕ 2. СОЛИ ЭЛЕМЕНТОРГАНИЧЕСКИХ
И ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ, ФОСФИНОВ, АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ,
МЕТАЛЛОВ И КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОВ 94

Ю.А. Шерякова, О.М. Хишова
ПОДСЛАСТИТЕЛИ В СИРОПАХ И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА..... 106

ОРГАНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ДЕЛА

В.В. Кугач, Т.Л. Петрище, А.С. Ковальчук

ОПТИМИЗАЦИЯ ОЧЕРЕДЕЙ В АПТЕКЕ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

В статье проанализированы способы оптимизации очередей в аптеках, которые влияют на качество фармацевтического обслуживания населения и лояльность посетителей аптек. Показано, что для уменьшения очередей аптеки используют дополнительный персонал в «часы пик», внедряют автоматизацию бизнес-процессов, штрих-кодирование, интернет-бронирование и другие инновационные технологии. За рубежом в аптеках с открытой выкладкой товара эффективно использование «мобильных кассиров». Наибольшее распространение получили электронные очереди, применение которых дает преимущества посетителям, персоналу и администрации аптек. В настоящее время электронные очереди внедрены в работу 14 аптек РУП «Белфармация».

Ключевые слова: очередь, оптимизация, электронная очередь, штрих-кодирование, автоматизация, интернет-бронирование, качество, эффективность.

ВВЕДЕНИЕ

Современный посетитель становится все более требовательным к качеству фармацевтических товаров и услуг, особенно в крупных городах, где на фармацевтическом рынке наблюдается серьезная конкуренция [1].

Важной проблемой обслуживания населения является оптимизация очередей. Очереди в аптеках обычно образуются в так называемые «часы пик» – это время с 17 до 20 часов, когда заканчивается рабочий день. В аптеках, расположенных возле транспортных развязок (транспортные остановки, выходы из метро), в это время собирается до 15-20 и более покупателей одновременно [2].

Простаивание в очередях способно испортить настроение даже самому позитивно настроенному клиенту. Стоя в очереди, люди часто думают о том, что их время потрачено напрасно. Когда утомленный ожиданием посетитель наконец-то дожидается своей очереди, он может забыть, что ему необходимо. При этом только 30% посетителей приходят в аптеку с рецептом или со списком лекарственных средств от врача, остальные при их выборе нуждаются в помощи фармацевтического работника [3]. В

условиях собравшейся очереди провизору трудно оказать полноценную консультацию, предложить покупателю альтернативный товар [1].

Кроме того, не каждый человек способен ждать. Некоторые покупатели пытаются приобрести требуемый товар вне очереди («дайте мне цитрамон без сдачи»), задают вопросы («я только спрошу, чтобы зря не стоять») и тем самым мешают провизору полноценно обслужить очередного клиента. Посетители в очереди, знакомые и не знакомые друг с другом, начинают разговаривать. Шум и гул в торговом зале отвлекают провизора-рецептара и мешают ему работать. В такой обстановке в торговом зале аптеки нередко возникают конфликтные ситуации [3].

В конечном итоге, чем длиннее очередь, тем меньше удовлетворен посетитель аптеки и тем больше финансовые потери. Поэтому проблема сокращения очередей в аптеке является важной и актуальной [2].

Цель настоящей работы – изучить опыт работы зарубежных и отечественных аптек по оптимизации очередей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были источ-

ники литературы за последние 15 лет, посвященные проблеме регулирования очередей в аптеках. В работе использованы методы описания и сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературы позволил выявить основные традиционные и инновационные способы управления очередью в аптеке.

Оптимизация количества персонала. Одним из путей оптимизации очередей является обеспечение достаточного количества персонала и кассовых терминалов, увязка графика работы фармацевтического персонала с пиками посещаемости аптеки, временное привлечение к работе дополнительных работников в «часы пик». Количество работников первого стола должно быть таким, чтобы в очереди собиралось не более 3 человек [4]. Однако в условиях дефицита свободных площадей размещение в торговом зале дополнительных рабочих мест провизоров-рецептаров не всегда возможно. Тем более, что дополнительные кассы необходимы только в часы максимальной посещаемости. Большую часть времени они будут простаивать, а значит, будут неэффективны.

Автоматизация бизнес-процессов и штрих-кодирование. Для выполнения главной функции – обеспечения населения лекарственными средствами, изделиями медицинского назначения, медицинской техникой и другими товарами – аптека должна выявлять дефектуру, осуществлять выбор поставщика, формировать заказ, оприходовать товар и осуществлять его предпродажную подготовку, вести учет, управлять запасами, осуществлять реализацию лекарственных средств и других товаров из аптек. От слаженности и скорости осуществления всех процессов зависит время занятости персонала и его возможность непосредственно участвовать в обслуживании посетителей аптек [5]. Компьютерные программы, позволяющие автоматизировать бизнес-процессы в аптеке, предоставляют целый ряд преимуществ: автоматизированный учет поступления и перемещения товаров от поставщиков и внутри аптечной сети, проведение выборочной или сплошной инвентаризации, ведение банковских и кассовых операций, автоматизированное формирование заказов и ценообразование, реализация това-

ров по штрих-коду, возможность работы с различными видами дисконтных программ, контроль и учет предоставленных скидок [6].

Среди перечисленных преимуществ автоматизации и информатизации аптек с точки зрения повышения скорости обслуживания покупателей наиболее важная роль принадлежит штриховому кодированию товара. При наличии подключенного к компьютеру кассового аппарата достаточно провести сканером по упаковке и получить полную информацию о реализуемом товаре. Дата 3 апреля 1973 г. считается официальным днем рождения штрих-кода, ставшим самым выдающимся событием в истории современной логистики. После внедрения универсального штрих-кода промаркированный продукт может быть легко идентифицирован в любой соответствующим образом оборудованной точке розничной реализации, в том числе в аптеке [7].

В аптеках Беларуси штрих-кодирование впервые стали использовать в конце XX столетия [8]. Исследование автоматизированных систем учета лекарственных средств и других товаров аптечного ассортимента показало, что в аптеках Республики Беларусь в начале XXI века использовались различные системы и методы кодирования [9]. Процесс компьютеризации рабочих мест провизоров-рецептаров белорусских аптек продолжается и в настоящее время. В четырех аптеках РУП «Фармация» внедрен программный комплекс «Белорусская аптека», который наряду с автоматизацией бизнес-процессов позволяет ускорить процесс обслуживания посетителей в торговом зале аптеки [10].

Технология queue busting. В западных странах для борьбы с очередями используется технология queue busting (убийца очередей). Эта технология применима в крупных аптеках с открытой выкладкой товара. Ее суть заключается в следующем. Специального сотрудника оснащают терминалом сбора данных, сканером штрих-кода и мобильным принтером. Такого сотрудника называют «мобильным кассиром», а комплект оборудования, с которым он работает в зале, – «мобильной кассой» или «мобильным POS». Название не совсем правильное, так как устройства, не зарегистрированные в официальных органах и не имеющие фискальной памяти, не явля-

ются абсолютными заменителями кассовых аппаратов. Правильнее назвать такое устройство «мобильной предварительной кассой». При образовании очереди «мобильный кассир» подходит к ожидающим посетителям и предлагает им предварительно подсчитать стоимость покупок. Получив согласие, он сканирует штрих-коды всех товаров, перекладывая их в специальный пакет. По завершении сканирования пакет закрывается, печатается предварительный чек (в нем указываются номер заказа в виде штрих-кода и общая стоимость покупки) и наклеивается на пакет. Покупатель подходит к стационарной кассе, где кассир, просканировав предварительный чек, получает деньги и выдает обычный (фискальный) чек. Эта технология экономит время на формировании чека, повышая скорость обслуживания. И в то же время она позволяет обойтись без открытия дополнительного кассового места. Использование этой технологии приводит к сокращению очередей на 50%. Внедрение технологии queue busting позволяет привлечь дополнительных покупателей в том случае, если очередь превышает 7-10 человек или если стоять в ней приходится более 15-20 минут [1].

Интернет-бронирование. Предварительный заказ лекарственных средств и других товаров аптечного ассортимента через Интернет доказал свою эффективность с точки зрения предоставления клиентам возможности исключить стояние в очереди и тем самым экономить свое время. Механизм интернет-бронирования заключается в следующем. Клиент на сайте оформляет заказ. В некоторых российских аптеках установлена его минимальная сумма. Аптека в течение 1-1,5 часов формирует заказ, после чего отправляет на электронную почту покупателя уведомление о его готовности. Заказ действителен 24 часа. Если в течение этого времени заказ не выкупается, то он аннулируется и расформировывается, а товары возвращаются в свободную продажу. Но, как правило, клиент имеет возможность продлить бронь заказа, позвонив в аптеку по телефону. В аптеке покупатель получает свой заказ вне очереди. В некоторых аптеках для получения интернет-заказов выделяют отдельное окно. Покупатель называет номер своего заказа и осуществляет оплату. В его присутствии товар проверяют и складывают

в пакет [11, 12]. Интернет-бронирование введено в некоторых аптеках Республики Беларусь. Эту услугу в г. Минске предоставляют РУП «Белфармация» и ЗАО «Беролина» [12, 13].

Электронная очередь. Существуют также электронные системы управления потоком клиентов, которые получили название «электронная очередь». Система управления очередью – это программно-аппаратный комплекс, который помогает оптимизировать и распределить поток клиентов [11]. Он включает в себя программное обеспечение, персональный компьютер, терминал выбора услуг (это может быть сенсорный терминал в антивандальном корпусе или обычный персональный компьютер с чековым принтером); информационное табло (светодиодное или жидкокристаллический телевизор); табло рабочего места (светодиодное или ЖК-монитор); аппаратный или виртуальный пульт оператора; аппаратный пульт оценки качества обслуживания; оборудование звукового оповещения. Конфигурация системы и используемое оборудование зависит от предъявляемых требований, особенностей объекта и выделенного бюджета [2]. В аптеке она зависит от количества рабочих мест фармацевтов, наличия тех или иных компонентов и модулей в системе (web-регистрация, голосовое сопровождение вызова, наличие системы оценки качества обслуживания) [15].

Для выбора номера очереди посетителю аптеки необходимо на терминале выбрать нужную ему услугу. Чековый аппарат, встроенный в терминал, печатает талон с информацией о номере очереди посетителя. После этого посетитель проходит в зал ожидания, где спокойно может дожидаться своей очереди. После завершения работы с предыдущим покупателем оператор вызывает следующего при помощи пульта. Вызов покупателя отображается на центральном табло в зале ожидания и также дублируется на операторском табло, которое устанавливается над кассой. Одновременно для привлечения внимания посетителей аптеки при вызове на центральном табло подается звуковой сигнал. Услышав звуковой сигнал, увидев на центральном табло номер своей очереди и номер окошка, по стрелке-указателю покупатель направляется к вызывающему его провизору-рецептару. Не явившегося кли-

ента провизор может вызвать повторно [2].

Еще одним плюсом использования электронной очереди является возможность предоставить клиенту дополнительную важную информацию: точное время, график работы аптеки, новости об акциях, скидках и оказываемых услугах и др. Все это может показывать электронный экран помимо номера талона посетителя. Информация может быть выполнена как в виде бегущей строки, так и цветных текстовых, графических экранов. В электронной очереди допускается наличие рекламы. Она может быть исполнена в виде текстовых предложений и видеороликов. Это идеальный вариант информирования клиентов и сокращения затрат на внешнюю рекламу.

Электронная система управления очередью может стать важным конкурентным преимуществом для аптеки. В результате ее использования достигается увеличение производительности труда в аптеке, повышение качества и эффективности фармацевтического обслуживания населения. Но для ее внедрения необходимы определенные условия. Прежде всего, это наличие большого количества покупателей: внедрение электронной очереди целесообразно в крупных аптеках, которые обладают высокой проходимостью и большой загруженностью торгового зала. Аптека должна располагать торговым залом большой площади (не менее 4-х первых столов), чтобы выделить пространство для размещения терминала и сидячих мест для посетителей. В аптеке должна быть техническая возможность установки специального оборудования [11, 15].

Электронные очереди имеют несомненные преимущества для клиентов: экономия времени и возможность его рационального использования в очереди для чтения и отдыха; избавление от утомительного ожидания; чувство комфорта и уверенности, так как не требуется отслеживать очередь. Появляются дополнительные условия для обеспечения конфиденциальности: посетитель может задать вопрос и обсудить его с работником аптеки, который он бы постеснялся обсуждать, когда за ним стоят люди. Еще одним плюсом для посетителей аптек является возможность предварительной регистрации, как в торговом зале аптеки, так и через Интернет, если требуется записаться заранее [11, 17].

Внедрение электронных очередей по-

зволяет улучшить условия труда персонала аптек за счет снижения стрессовых ситуаций и равномерного распределения нагрузки на провизоров-рецептаров. При этом расширяются возможности фармацевтического консультирования и индивидуального общения работника первого стола с покупателем [17]. Важным преимуществом электронной очереди, как для работников аптеки, так и для клиентов является снижение количества конфликтов в торговом зале [2].

Электронные очереди расширяют возможности для администрации аптеки: эффективно планировать работу персонала, учитывая количество посетителей; контролировать работу сотрудников в режиме реального времени [2].

В Европе электронные системы управления очередью можно встретить практически повсеместно. В России подобные системы начали появляться в конце первого десятилетия XXI века. [15]. В 2011 г. электронная очередь была внедрена в одной из крупнейших аптечных сетей г. Москвы «Самсон-Фарма» и в аптечной сети г. Санкт-Петербурга «Петербургские аптеки» [16].

В 2013 г. электронная очередь заработала в нескольких аптеках г. Минска [17]. Первым учреждением стала аптека № 110 РУП «Белфармация». Там электронная очередь функционирует с 23 марта 2013 г. На начало 2014 г. в г. Минске было 11 аптек, в которых внедрена электронная очередь. В настоящее время электронная очередь работает в 14 столичных аптеках. Предполагается, что к концу года подобная система будет действовать в 20 самых крупных и загруженных аптеках г. Минска [18]. Это государственные аптеки, где достаточно высокий процент пожилых покупателей, получающих лекарственные средства по льготным и бесплатным рецептам. Вне очереди обслуживаются матери с маленькими детьми, инвалиды войны, посетители, пришедшие за изготовленными по рецепту лекарственными средствами [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очереди в аптеках крупных городов являются серьезной проблемой, так как провоцируют конфликты в торговых залах, снижают качество обслуживания посетителей и их лояльность к аптеке. С целью

оптимизации очередей в аптеках увеличивают количество персонала в «часы пик», используют автоматизацию бизнес-процессов, штрих-кодирование товара, интернет-бронирование. За рубежом в аптеках с открытой выкладкой товара имеется опыт использования «мобильных кассиров».

Наибольшее распространение, в том числе в Республике Беларусь, получили электронные очереди, позволяющие создать атмосферу отдыха и конфиденциальности для посетителей аптек, повысить качество фармацевтического консультирования, улучшить условия труда фармацевтического персонала аптек. В настоящее время электронные очереди внедрены в работу 14 аптек РУП «Белфармация».

SUMMARY

V.V. Kuhach, T.L. Petrishche,
A.S. Kovalchuk
QUEUE OPTIMIZATION
AT THE PHARMACY

Ways of queue optimization at the pharmacy, influencing the quality of the pharmaceutical service to the population and loyalties of pharmacy customers are analyzed in the article. It has been demonstrated that to cut down queues at the pharmacy additional personnel is used during peak hours, automation of business processes, bar coding, online booking and other innovative technologies are introduced. "Mobile cashiers" are effectively used abroad at the pharmacy with an open layout of goods. Electronic queues have gained a wide distribution, which gives advantages to customers, personnel and administration of the pharmacy. At present, electronic queues have been introduced in the work of 14 pharmacies of RUE "Belfarmatsiya".

Keywords: queue, optimization, electronic queue, bar coding, automation, online booking, quality, effectiveness

ЛИТЕРАТУРА

1. Оптимизация очередей // Казахстанский фармацевтический вестник. – 2010. – 15 нояб. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://pharmnews.kz/news/optimizacija_ocheredej/2010-11-15-2024. – Дата доступа: 12.04.2014.

2. Зеленин, Д. Электронная очередь / Д. Зеленин // Фармацевтическое обозрение. – 2013. – № 10 (139).

3. Славкина, А. Очередь в аптеке: пережиток прошлого или суровая реальность? / А. Славкина // Фарм-бизнес: современная аптека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://pharm-business.ru/mastery/1542>. – Дата доступа: 14.04.2014.

4. Волчик, И.В. Аптечные сети: хочешь выжить – умей быть привлекательным / И.В. Волчик // Провизор. – 2008. – № 20.

5. Матвеева, В. Автоматизация аптек: как выбрать программное обеспечение / В. Матвеева // Аптека. – 08.12.2003. – № 418 (47).

6. Славкина, А. Автоматизация аптеки / А. Славкина // Фарм-бизнес: современная аптека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://pharm-business.ru/mastery/117>. – Дата доступа: 14.04.2014.

7. Организация учета лекарственных средств в аптеке по системе штрихового кодирования // Центр КТ. Все для маркировки [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://markerovka.ru/state/uchet_lekarstv_shtrih_kod.html. – Дата доступа: 12.04.2014.

8. Масько, А.Н. Использование компьютерных систем в практике работы аптеки № 128 г. Витебска // А.Н. Масько. А.Н. Толочко // Шестой съезд фармацевтов Республики Беларусь: тезисы докл., Минск, 21-22 окт. 1999 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь; БелРПП "Фармация"; ГП "Респ. центр экспертиз и испытаний в здравоохран."; концерн "Белбиофарм"; Витебский гос. мед. ун-т. – Минск, 1999. – С. 39–40.

9. Кугач, В.В. Автоматизированные системы учета товаров в аптеках Республики Беларусь / В.В. Кугач, В.В. Пахомов // Запорожский медицинский журнал (Украина). – 2007. – № 3. – С. 41–48.

10. Зверко, И.Е. Системные информационные технологии – один из основных инструментов обеспечения эффективной работы предприятия / И.Е. Зверко // Материалы VIII съезда фарм. работников Респ. Беларусь, Витебск, 8–9 апр. 2010 г. – Витебск, 2010. – С. 331–335.

11. Надежная аптека с низкими ценами и возможностью не стоять в очереди!!! // IRecommend.ru. Отзывы обо всем [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://irecommend.ru/content/nadezhnaya-apteka-s-nizkimi-tsenami-i-vozmozhnostyu-ne-stoyat-v-ocheredi>. – Дата доступа: 31.03.2014.

12. Правила использования услуги

«Интернет-заказ» // РУП «Белфармация» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.pharma.by/search_drugs/shop/. – Дата доступа: 14.04.2014.

13. Интернет-бронирование // ЗАО «Беролина» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://berolina.su/internet-bronirovanie?mode=folder&folder_id=4562004. – Дата доступа: 14.04.2014.

14. Электронная система управления очередью // Группа компаний ККС [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.kkc.by/images/stories/resheniya/sistema-upravleniya-ocheredju/Sistema-upravleniya_ocheredyu_KKC.pdf. – Дата доступа: 14.04.2014.

15. Мортиков, Н. Какие сервисы способны повлиять на уровень продаж в аптеке / Н. Мортиков // Катрен-Стиль [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.katrenstyle.ru/aptechnye-prodazhi-povovvedennye>. – Дата доступа: 31.03.2014.

16. Электронная система управления очередью Meta-Q // ООО «Мета Технологическая Группа» [Электронный ресурс]. –

Режим доступа: <http://www.metatgroup.ru>. – Дата доступа: 31.03.2014.

17. Мисник, Е. Терминал рассадит всех / Е. Мисник // Республика. – 2013. – 16 ноября [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.respublika.info/5876/society/article65588>. – Дата доступа: 31.03.2014.

18. За лекарствами – по талонам! // NAVINY.BY. Общество [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://naviny.by/rubrics/society/2014/02/17/ic_articles_116_184623. – Дата доступа: 31.03.2014.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра организации и экономики
фармации с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 60-14-08,
Кугач В.В.

Поступила 22.04.2014 г.

В.В. Кугач, М.А. Валуева

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ ДЛЯ ГИНЕКОЛОГИИ

Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет

Статья посвящена изучению качества фармацевтического обслуживания посетителей аптек при реализации изделий медицинского назначения для гинекологии. В результате оценки качества обслуживания 20 аптечными работниками посетителей аптек при приобретении ими изделий медицинского назначения для гинекологии методом «Тайного покупателя» был отмечен средний уровень знаний аптечных работников об изделиях медицинского назначения для гинекологии, в связи с чем выявлена необходимость повышения квалификации провизоров в данной области.

Ключевые слова: изделия медицинского назначения для гинекологии (ИМН), качество фармацевтического обслуживания, «Тайный покупатель».

ВВЕДЕНИЕ

Важной задачей любой аптечной сети является привлечение посетителей, сохранение их лояльности и приверженности. Одним из способов выявления проблем в технологии обслуживания является на-

блюдение с помощью метода «Тайный покупатель» («Mystery Shopping») [1].

Этот метод применяется как в рамках маркетингового исследования, направленного на оценку потребительского опыта, полученного клиентом в процессе приобретения товара или услуги, так и с целью

решения организационных задач, например, измерения уровня соблюдения стандартов обслуживания клиентов сотрудниками в организации [2].

Для сбора информации используются специально подготовленные люди («тайные покупатели»), осуществляющие проверки от лица потенциальных/реальных клиентов и детально докладывающие о результатах проверок [2, 3].

Исследование «тайный покупатель» может применяться для оценки системы обучения и мотивации персонала; в рамках программ повышения лояльности к бренду или продукту компании; в целях анализа качества работы конкурентов; для стимулирования сбыта продукции; для оценки качества обработки заявок с сайта или телефонных операторов [3, 4].

В рамках проверок оцениваются такие параметры, как соблюдение сотрудниками норм этикета (приветливость, вежливость, доброжелательность); речь сотрудников (грамотность, понятность); внешний вид сотрудников с точки зрения опрятности и соответствия фирменному стилю компании; выполнение сотрудниками принятых стандартов компании; чистота и порядок в помещении и на рабочих местах сотрудников; мерчандайзинг; скорость обслуживания; доступность сотрудников для клиента; знание продукта и навыки продаж [3, 5, 6].

С помощью метода «Тайный покупатель», при минимальных инвестициях в организацию системы скрытых проверок, можно достигнуть максимального эффекта в процессе управления сервисом. Данный вид проверок помогает улучшить качество обслуживания на 7-15%.

Методика «Тайный покупатель», широко используемая в США и Европе для контроля качества обслуживания в розничной торговле, набирает популярность и в нашей стране [6].

Аптечные сети, используя данный метод для выявления проблем в технологии обслуживания посетителей и на основании полученных результатов разрабатывая методики улучшения качества обслуживания, могут добиться существенных результатов в увеличении конкурентоспособности, привлечении новых и приобретении постоянных посетителей [1].

Целью настоящего исследования было изучить качество фармацевтического об-

служивания посетителей аптек при приобретении ИМН для гинекологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методом контент – анализа нами был изучен ассортимент ИМН для гинекологии, представленный на фармацевтическом рынке Республики Беларусь [7].

Изучение качества фармацевтического обслуживания посетителей аптек при реализации ИМН для гинекологии проведено на базе 10 аптек г. Витебска (5 государственной формы собственности, 5 – частной). Для этого была разработана анкета – оценочный лист (таблица), заполнение которой осуществлялось непосредственно после посещения аптеки. В исследовании участвовало 20 фармацевтических работников (таблица).

При анализе действий провизора в торговой зоне отмечали, обратил ли он внимание на посетителя, когда тот входил в отдел, поздоровался или нет, установил ли зрительный контакт.

При оценке внешнего вида провизора обращали внимание на наличие у него бейджа, состояние одежды (мятая и грязная или выутюженная и чистая), как в целом выглядит провизор – его вид опрятный и аккуратный или вызывающий и отталкивающий (немытые, непричесанные волосы, вызывающий макияж, отсутствие гигиенического маникюра, для мужчин, не носящих бороду – небритость и т. д.).

Оценивали общую культуру общения провизора (его речь должна быть грамотной, понятной посетителям, не должны использоваться в разговоре слова-паразиты («на самом деле», «как бы»), вулгаризмы), здороваются ли провизоры с посетителями, благодарят ли за покупку при приобретении косметики и других товаров аптечного ассортимента, желали ли здоровья при приобретении лекарственных средств.

Изучали также, как провизор ориентируется в номенклатуре ИМН для гинекологии, знает ли ассортимент, способен ли он предоставить информацию просто и понятно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что на рынке изделий медицинского назначения для гинеко-

Таблица – Анкета «Тайного покупателя» для оценки качества фармацевтического обслуживания посетителей аптек при приобретении ИМН для гинекологии

ПРЕЗЕНТАЦИЯ ТОВАРА

При приобретении набора гинекологического	Все ИМН для гинекологии, имеющиеся в аптеке, представлены на витрине.
	Провизор назвал производителя ИМН.
	Провизор четко назвал различия между наборами.
	Провизор хорошо ориентируется в товаре, говорит на понятном языке. На вопросы дает удовлетворяющие ответы. Не пользуется прилагаемой инструкцией.
	Товар знает на уровне технических характеристик (информация для выбора непонятна). Использует инструкцию, что вызывает сомнение в его профессиональной грамотности.
	Товар знает слабо, в ответах на вопросы путается. Предлагал самостоятельно ознакомиться с инструкцией.
Доп. замечание:	
При приобретении внутриматочных противозачаточных средств	Провизор назвал производителя ИМН.
	Провизор четко назвал различия между наименованиями внутриматочных противозачаточных средств.
	Провизор хорошо ориентируется в товаре, говорит на понятном языке. На вопросы дает удовлетворяющие ответы. Не пользуется прилагаемой инструкцией.
	Товар знает на уровне технических характеристик (информация для выбора непонятна). Использует инструкцию, что вызывает сомнение в его профессиональной грамотности.
	Товар знает слабо, в ответах на вопросы путается. Предлагал самостоятельно ознакомиться с инструкцией.
Доп. замечание:	

логии Республики Беларусь представлен только 1 производитель – ЗАО «Медицинское предприятие Симург» (Республика Беларусь, г. Витебск).

Всего в Республике Беларусь зарегистрировано 38 наименований ИМН, из которых 15,8% – наборы гинекологические, 23,7% – внутриматочные противозачаточные, 55,2% – отдельные виды изделий медицинского назначения, 5,3% – пессарии [7].

Анализ оценочных листов показал, что провизоры во всех исследуемых аптеках одеты опрятно, в чистые, выглаженные халаты с бейджами и фирменными логотипами. Отмечен высокий уровень общения с посетителями, в соответствии с правилами фармацевтической этики.

Весь ассортимент имеющихся ИМН для гинекологии был представлен на витрине в 2 аптеках, в 1 аптеке ИМН для гинекологии отсутствовали. В 4 аптеках ИМН для гинекологии не были представлены на витрине, в 3 аптеках были представлены не все наименования.

83,3% провизоров без затруднения на-

звали производителя ИМН для гинекологии, 16,7% необходимо было обратиться к инструкции.

Смогли четко назвать различия между наборами гинекологическими 55,5% провизоров, 44,5% для этого необходимо было обратиться к инструкции.

На вопросы о внутриматочных противозачаточных средствах (различия между моделями, длительность контрацепции) 27,8% аптечных работников давали удовлетворяющие ответы, не используя прилагаемую инструкцию, 72,2% затруднялись ответить на вопросы.

В результате исследования был выявлен средний уровень знаний аптечных работников ИМН для гинекологии (27,8% могут ответить на задаваемые вопросы без использования инструкции).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате оценки качества обслуживания фармацевтическими работниками посетителей аптек при реализации ИМН для гинекологии методом «Тайного

покупателя» был отмечен средний уровень знаний аптечных работников об ИМН для гинекологии, в связи с чем выявлена необходимость повышения квалификации провизоров в данной области.

SUMMARY

V.V. Kuhach, M.A. Valueva

EVALUATION OF THE QUALITY OF PHARMACEUTICAL SERVICE IN THE IMPLEMENTATION OF HEALTH CARE PRODUCTS FOR GYNECOLOGY

The article examines the quality of pharmaceutical care provided to visitors of pharmacies when purchasing medical devices for gynecology. The evaluation of quality of service provided by 20 pharmacists to visitors when purchasing medical devices for gynecology was made by using the method "Mystery shopping" and it was marked by the average level of knowledge of pharmacists on medical devices for gynecology, and therefore it was identified the need for training of pharmacists in this area.

Keywords: products for gynecology, quality of pharmaceutical care, «Mystery Shopping».

ЛИТЕРАТУРА

1. Тайный покупатель [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ru.wikipedia.org/wiki>. – Дата доступа: 26.04.2014.
2. Тайный покупатель [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.mysteryshoppers.ru/mystery.php?txt_id=10. – Дата доступа: 26.04.2014.
3. Тайный покупатель [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://mysteryshopper.by/>. – Дата доступа: 26.04.2014.
4. Система оценки - тайный покупатель [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://laudator.ru/businessguides/tajnyj-rokupatel.html>. – Дата доступа: 23.04.2014.
5. Тайный покупатель [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://timesnet.ru/ideas/4274/>. – Дата доступа: 20.04.2014.
6. Исследование «Тайный покупатель» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.tns-global.ru/services/marketing/practice_areas/issledovaniya_tajnyu-rokupatel. – Дата доступа: 21.04.2014.
7. Реестр ИМН РБ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://rceth.by/Refbank/default.aspx>. – Дата доступа: 04.02.2014.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра организации и экономики
фармации с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 60-14-08,
Кугач В.В.

Поступила 08.05.2014 г.

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

Т.Д. Карапетян¹, В.С. Мирзоян², Р.М. Анисян¹

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ФИТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИСТЬЕВ АБРИКОСА *ARMENIACA VULGARIS L.* (ROSACEA)

¹Ереванский государственный медицинский университет

²Научный центр оценки и анализа рисков безопасности пищевых продуктов, Республики Армения

*Проведено фитохимическое исследование некоторых биологически активных веществ (БАВ) листьев абрикоса обыкновенного *Armeniaca vulgaris L.* (Rosaceae), собранного в Котайкском районе Республики Армения. Рассматриваются результаты, характеризующие изменения в количестве сухого вещества, пектиновых веществ, содержания пигментов, а также качественный состав фенольных соединений.*

Исследования показали, что в абрикосовых листьях, собранных за 3 недели до достижения плодами технологической зрелости, содержание сухого вещества значительно выше (29,9 до 37,3%), чем в плодах. Наиболее высокое суммарное количество хлорофиллов Хл (a + b) и каротиноидов регистрировалось в листьях старых деревьев (ЛСД) – это деревья старше 15 лет (3,7 и 0,8 мг/г). Однако, количество зеленых пигментов (хлорофилла “a”) оказалось больше в листьях молодых деревьев (ЛМД) – это деревья младше 15 лет – 2,75 мг/г.

В течение вегетации в листьях накапливается значительное количество пектиновых веществ (гидропектина, протопектина). Однако за 3 недели до технической зрелости плодов синтез растворимого пектина ослабляется параллельно с увеличением содержания протопектина (1,2%).

Комплекс фенольных соединений изучаемого экстракта состоит в основном из конденсированных дубильных веществ, флавонов, флавонолов, 5-гидроксифлавонолов, 5-гидроксифлавонов, халконов, ауронов, катехинов, кумаринов.

*Ключевые слова: *Armeniaca vulgaris L.*, листья абрикоса обыкновенного, пектиновые вещества, пигменты, дубильные вещества, флавоноиды.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время широкое применение в медицинской практике находят лекарственные средства растительного происхождения, обладающие малой токсичностью, мягкостью действия и редким проявлением аллергических реакций.

Перспективным растением для Армении является абрикос обыкновенный (*Armeniaca vulgaris L.*, сем. Rosaceae) [1]. Опыт применения данного растения (плоды, семена, масло, камедь, листья) в народной медицине свидетельствует о его широких терапевтических возможностях [2–5]. В частности, листья абрикоса применялись при диарее, хронической интоксикации, ожогах, поносе, для лечения ссадин, трещин и ран кожных покровов, при стоматите, в качестве болеутоляющего при зубной боли, а также при чесотке, экземе и т.д. [6].

В результате проведенных нами исследований было установлено, что экстракты, полученные из листьев абрикоса, обладают выраженной антиоксидантной и антимикробной активностью. При этом экстракты из листьев молодых деревьев проявляют более высокую активность, чем экстракты из листьев старых деревьев [7,8]. Из определения цитотоксичности *in vitro* экстрактов листьев абрикоса следует, что водный экстракт не проявляет *in vitro* какой-либо цитотоксичности [9].

Таким образом, абрикосовые листья заслуживают более обстоятельного изучения как перспективное лекарственное средство.

Учитывая вышеизложенное, а также распространённость в ареале Армении абрикоса обыкновенного, целью нашего исследования явилось изучение фитохимического состава листьев абрикоса в про-

цессе вегетации и в зависимости от возрастных особенностей деревьев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования использовали свежие и сухие измельченные листья абрикоса обыкновенного сорта Еревани (Шалах), собранные в период плодоношения с мая по июль 2011 года из абрикосовых деревьев Котайкского района Республики Армения. Плоды анализировали в период их созревания. Для исследования были отобраны 50 деревьев.

Свежие листья были фиксированы на паровой бане в течение 10 минут и высушены при комнатной температуре до воздушно-сухого состояния, после чего упакованы в бумажные мешки, которые хранили в сухом прохладном месте. Для химического анализа среднюю пробу сырья измельчали до размера 1,0 мм.

Определение сухого вещества в свежем материале проводили путем высушивания проб в термостате при температуре 100–105°C до установления постоянного веса [10].

Количественный состав пигментов в листьях определяли однократно, за 3 недели до созревания плодов, в зависимости от возраста деревьев, спектрофотометрическим методом по стандартной методике В.Ф. Гавриленко и Т.В. Жигалова [11]. Из листьев пигменты экстрагировали 80%-ным ацетоном 3–4 раза до полного извлечения пигментов. Спектрофотометрию проводили на спектрофотометре Genesys 10S UV–VIS Spectrophotometer (USA), фирма Thermo scientific при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения пигментов: 445, 450, 452, 470, 646 и 663 нм. Расчет проводили по формуле Лихтеналера [12].

Экстракцию водорастворимого пектина проводили горячей водой очищенной после удаления сахаров 80% этанолом. Протопектин извлекали из остатка после извлечения водой сначала 0,3 н кислотой хлористоводородной, затем 1% раствором аммония лимоннокислого. Количество пектиновых веществ определяли с помощью калибровочного графика, построенного по чистой галактуроновой кислоте [10].

Для проведения *качественного анализа дубильных веществ* из воздушно-сухого сырья готовили водные извлечения 1:100. 1 г измельченного растительного сырья за-

ливали 100 мл воды. Нагревали на водяной бане 20–30 мин, фильтровали через бумажный фильтр. Полученное извлечение использовали для проведения качественных реакций [13].

С целью изучения *качественного состава флавоноидов* 1 г измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл и заливали 70%-ным этиловым спиртом. Проводили настаивание на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр. Для изучения флавоноидов проводили качественные реакции на простые и сложные фенольные соединения (цианидиновая проба, реакции с кислотой хлористоводородной, с раствором аммиака, с реактивом Вильсона, железа хлоридом (III), алюминия хлоридом, ацетатом свинца (II), раствором ванилина в концентрированной серной кислоте) [13].

Для проведения *качественного анализа кумаринов* 2 г измельченного порошка абрикосовых листьев помещали в колбу (100 мл), заливали 30 мл 95 % этанолом и нагревали на кипящей водяной бане в течение 15 мин с обратным холодильником. После охлаждения фильтровали. Для обнаружения кумаринов в растительном сырье использовали их лактонные свойства и свойства давать окрашенные растворы с диазосоединениями [13].

Анализы выполняли в трех-пяти повторностях. Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием программы Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сухие вещества. Результаты анализа сухих веществ и воды в листьях абрикоса сорта Еревани (Шалах) в динамике за июнь месяц показывают, что содержание сухих веществ может варьировать в пределах от 29,9 до 37,3%, а содержание воды от 62,7 до 70,1%. В течение вегетации растений наблюдается снижение водоудерживающей способности коллоидов протоплазмы, что приводит к уменьшению содержания воды и соответственно увеличению сухих веществ в листьях (таблица 1).

Установлено также, что содержание сухих веществ в плодах меньше аналогичного для листьев почти в 2 раза и его значение находится в пределах 17,5±0,84%.

Таблица 1 – Содержание воды и сухих веществ в листьях абрикоса обыкновенного (*Armeniaca vulgaris* L.) (средние данные выражены в процентах, $P < 0,05$)

Листья, %						Плоды, %			
Сроки анализа (июнь-июль)									
01.06.11.		07.06.11.		14.06.11.		21.06.11.		07.07.11.	
сухой вес	вода	сухой вес	вода	сухой вес	вода	сухой вес	вода	сухой вес	вода
29,9±1,1	70,1	33,8±4,1	66,2	35,9±3,9	64,1	37,3±2,9	62,7	17,5±0,84	82,5

Определение состава пигментов в листьях. Пигменты – основная составляющая фотосинтетического аппарата, отвечающая за поглощение и преобразование солнечной энергии в энергию химических соединений. Поэтому от их количества и эффективности работы во многом зависит продуктивность растения [14].

Данные по содержанию хлорофиллов “а” и “б” отдельно в листьях старых (ЛСД) и в листьях молодых деревьев (ЛМД) (соответственно, деревья до 15 и более 15 лет) представлены в таблице 2.

Анализы показали, что во всех исследованных образцах (ЛСД и ЛМД) присутствуют хлорофиллы. Наиболее высокое суммарное количество хлорофиллов Хл (а+б) и каротиноидов регистрировалось в ЛСД. Однако, количество зеленых пигментов (хлорофилла “а”) оказалось больше в ЛМД – 2,75 мг/г.

Расчет отношения хлорофилла “а” к хлорофиллу “б” ($X_{л_a}/X_{л_b}$) находится в обратном пропорциональной зависимости от

суммарного содержания Хл (а + б) и варьирует от 0,6 в ЛСД до 0,85 мг/г в ЛМД, что может служить признаком высокой интенсивности фотосинтеза у молодых деревьев.

Количественное определение пектиновых веществ в изучаемых листьях и плодах. Учитывая важность пектиновых веществ для растений, а также для организма человека и животных, мы проанализировали накопление и соотношение растворимого пектина (гидропектина) и протопектина в листьях и плодах абрикоса. Полученные данные представлены на рисунке.

В ходе проведенных исследований установлено, что в листьях абрикоса, собранного в период плодоношения, содержится от 0,3 до 1,2% пектиновых веществ (на сухую массу).

В течение вегетации в листьях накапливается значительное количество гидропектина, однако за 3 недели до технической зрелости плодов синтез растворимого пектина ослабляется параллельно с увеличением содержания протопектина.

Таблица 2 – Содержание пигментов в листьях абрикоса (*Armeniaca vulgaris* L.) в мг/г сырой массы

Возраст деревьев	Хл _а	Хл _б	Сумма хл _а + хл _б	Хл _а /Хл _б	Каротиноиды
ЛСД	2,6	1,1	3,7	0,6	0,8
ЛМД	2,75	0,8	3,45	0,85	0,7

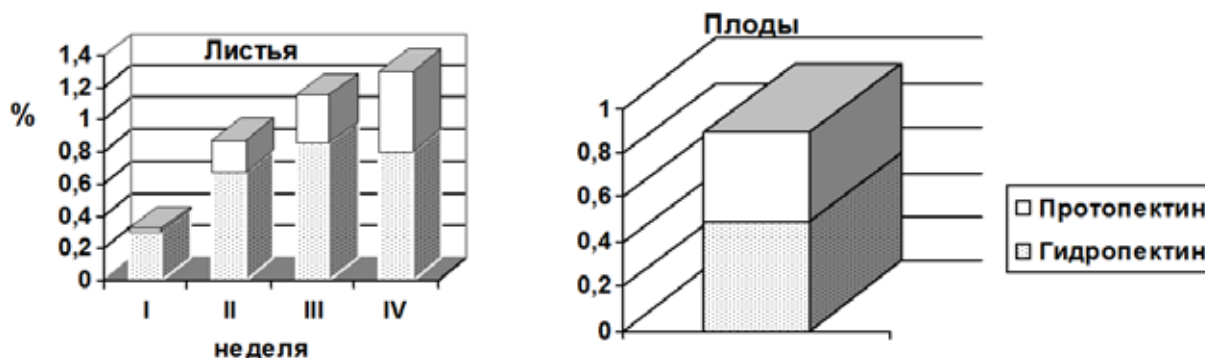


Рисунок – Количественное соотношение пектиновых веществ в листьях и плодах абрикоса обыкновенного (*Armeniaca vulgaris* L.) (по оси абсцисс – сроки анализа (раз в неделю за июнь месяц), по оси ординат – процентное содержание пектиновых веществ)

Качественный анализ фенольных соединений в листьях абрикоса обыкновенного. Результаты качественных реакций дубильных веществ при взаимодействии с различными реагентами показаны в таблице 3.

Анализы показали, что при взаимодействии с 1% раствором желатина появлялась муть, исчезающая от избытка реактива; с раствором железоммонийных квасцов (ЖАК) – черно-зеленое окрашивание (конденсированные дубильные вещества)

и осадок; при добавлении смеси хлористоводородной кислоты и 40% раствора формальдегида после кипячения образовался осадок (конденсированные дубильные вещества); при добавлении 10% раствора кислоты уксусной, 10% раствора средней соли свинца ацетата образуется легкое помутнение (гидролизующие дубильные вещества); в извлечение прибавляли натрия нитрат с 0,1н раствором кислоты хлористоводородной – бурое окрашивание.

Таблица 3 – Результаты качественных реакций на дубильные вещества в водных экстрактах листьев абрикоса обыкновенного (*Armeniaca vulgaris L.*)

Реактив	Результат реакции	Соединение, вступающее в реакцию
1% раствор желатина	Помутнение, исчезающее при добавлении избытка реактива	Дубильные вещества
Раствор – железоммонийные квасцы (без осаждения)	Черно-зеленое окрашивание	Конденсированные дубильные вещества
Раствор формальдегида с HCl	Осадок	Конденсированные дубильные вещества
CH ₃ COOH + Pb(CH ₃ COO) ₂	Легкое помутнение	Гидролизующие дубильные вещества
Натрия нитрат с 0,1н HCl	Бурое окрашивание	Гидролизующие дубильные вещества

Результаты качественных реакций флавоноидов приведены в таблице 4.

На основании проведенных качественных реакций сделали предположение о наличии в листьях абрикоса флавонов, флавонолов, 5-гидроксифлавонолов, 5-гидроксифлавонов, халконов, ауранов, катехинов.

В результате проведения качественных реакций на кумарины было установлено, что при взаимодействии 10%-ного калия гидроксида и нагревания в течение 5 мин на водяной бане (лактонная проба) раствор желтеет, а при прибавлении свежеприготовленного диазореактива Паули

Таблица 4 – Результаты цветных реакций на флавоноиды листьев абрикоса обыкновенного (*Armeniaca vulgaris L.*)

Реактивы	Результат реакции	Соединение, вступающее в реакцию
Цианидиновая реакция	Бледно-розовое окрашивание	Флавонолы Флавонол-3-гликозиды
HCl	Красное окрашивание	Халконы, аураны, катехины, антоцианидины
Реактив Вильсона	Желтое окрашивание, с желто-зеленой флюоресценцией	5-гидроксифлавоны, 5-гидроксифлавонолы
10% раствор аммиака	Оранжевое окрашивание	Флавоны, флавонолы, флавононы
5% раствор алюминия хлорида	Лимонно-желтая флюоресценция	Флавоноиды, имеющие две оксигруппы, в C ₃ и C ₅ положениях
1% FeCl ₃	Красновато-бурое окрашивание	Флавоны
Pb(CH ₃ COO) ₂	Осадок желто-оранжевый	Флавоны, халконы, аураны, содержащие свободные ортогидроксильные группы в кольце
1% раствор ванилина в конц. H ₂ SO ₄	Малиново-красное окрашивание	Катехины, а также производные флороглюцина и резорцина

по Кутачеку раствор приобретает вишнево-красное окрашивание, что свидетель-

ствует о присутствии в листьях абрикоса обыкновенного кумаринов (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты цветных реакций на кумарины листьев абрикоса обыкновенного (*Armeniaca vulgaris* L.)

Реактивы	Результат реакции
Лактонная проба (10 % КОН и нагревание)	Желтое окрашивание
Реакция азосочетания (диазореактив Паули по Кутачеку)	Вишнево-красное окрашивание

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что содержание сухих веществ в листьях абрикоса изменчиво и может варьировать в пределах от 29,9 до 37,3%. В абрикосовых листьях, собранных за 3 недели до достижения плодами технологической зрелости, содержание сухого вещества значительно выше, чем в плодах.

Во всех исследованных образцах (ЛСД и ЛМД) присутствуют хлорофиллы, содержание которых меняется в зависимости от возраста деревьев. Наиболее высокое суммарное количество хлорофиллов Хл (а + b) и каротиноидов регистрировалось в листьях старых деревьев (ЛСД). Однако, количество зеленых пигментов (хлорофилла "а") оказалось больше в листьях молодых деревьев (ЛМД) – 2,75 мг/г.

В течение вегетации в листьях накапливается значительное количество пектина. За 3 недели до технической зрелости плодов биосинтез растворимого пектина ослабляется параллельно с увеличением содержания протопектина. Максимум накопления пектиновых веществ наблюдается в листьях, собранных за 3 недели до достижения плодами технологической зрелости (1,2 %).

Результаты качественных реакций экстрактов, полученных из листьев абрикоса, позволяют сделать предположение, что комплекс фенольных соединений изучаемого экстракта состоит в основном из конденсированных дубильных веществ, флавонов, флавонолов, 5-гидроксифлавонолов, 5-гидроксифлавонов, халконов, ауранов, катехинов, кумаринов.

Полученные данные позволяют рассматривать листья абрикоса в качестве источника БАВ, в том числе для получения экстрактов, которые представляют интерес для использования в лечебно-профилактических целях.

SUMMARY

T.D. Karapetyan, V.S. Mirzoyan,
R.M. Hanisyan

SOME ASPECTS OF PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF APRICOT LEAVES *ARMENIACA VULGARIS* L. (ROSACEA)

Phytochemical analysis of apricot leaves (AL) was conducted, and the dry matter, pigments, pectines phenolic compounds were determined within this work for the first time.

The study of the quantitative content of dry matter reveals that the content of dry matter in apricot leaves (AL) collected over three weeks until the technological maturity of fruits is much higher (29,9 - 37,3%), than in the fruit.

Analysis of pigments in the leaves at that period reveals presence of chlorophyll in all the investigated samples (LOT and LYT). The highest total quantity of chlorophylls Chl (a+b) and carotenoids is determined in the leaves of old trees (LOT) (3,7 и 0,8 mg/g). However, the number of green pigments (chlorophyll "a") is higher in the leaves of young trees (LYT) – 2,75 mg/g. As to pectin, a significant amount is accumulated in the leaves during the vegetative season, and biosynthesis of soluble pectin is weakened three weeks before the technical maturity of the fruit in parallel to the increase of the content of protopectin. Maximum accumulation of total pectin is observed in leaves collected over 3 weeks until the technological maturity of fruits.

The results of qualitative analysis of extracts obtained from the leaves of apricot suggest that the complex of phenolic compounds is consisted mainly of condensed tannins, flavones, flavonols, 5-hydroxy flavonols, 5-hydroxy flavones, chalcones, aurons, catechins, coumarins.

Keywords: *Armeniaca vulgaris* L., apricot leaves, pectin, pigments, tannins, flavonoids.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лавренов, В.К. Энциклопедия лекарственных растений народной медицины / В.К. Лавренов, Г.В. Лавренова / Санкт-Петербург, Издательский Дом "Нева". – 2003. – 272 с.
2. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region / V. Dragovic-Uzalac [et al.] // Food Chem. – 2007. – Vol.102 – P. 966–975.
3. Akin, E.B. Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties / E.B. Akin, I. Karabulut, A. Topcu / Food Chem. – 2008. – Vol. 107. – P. 939–948.
4. Hussain, I. Physicochemical Properties of Bitter and Sweet Apricot Kernel Flour and Oil from North of Pakistan / I. Hussain, G. Sarosh, I. Shakirb // Internet Journal of Food Safety. – 2011. – Vol. 13. – P. 11–15.
5. Plants Database. United Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. *Prunus armeniaca* L. Apricot. Assessed – 2006.
6. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status / J.F. Young [et al.] // American Journal of Clinical Nutrition. – 1999. – Vol. 69. – N.1. – P. 87–94.
7. Анисян, Р.М. Количественная оценка фенольных соединений в листьях абрикоса и их антиоксидантная активность // Лекарство и медицина. – 2011. – №. 2. – С. 62–67.
8. *In vitro* antimicrobial activity of dried and fresh leaf extracts of old and young apricot trees (*Prunus Armeniaca*) / T.D. Karapetyan [et al.] // The New Armenian Medical Journal. – 2011. – Vol. 5. – No.4. – P. 44–49.
9. Цитотоксичность экстрактов листьев абрикоса *Armeniaca vulgaris* L. (Rosacea) *in vitro* / Т.Д. Карапетян [и др.] // «Медицина, наука и образование». – 2013. – №.15. – С. 136–139.
10. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош // Агропромиздат. – 1987. – 430 с.
11. Гавриленко, В.Ф. Большой практикум по фотосинтезу / В.Ф. Гавриленко, Т.В. Жигалова // М.: Изд. центр "АКАДЕМА". – 2003. – 256 с.
12. Lichtenthaler, H.K. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents / H.K. Lichtenthaler, A.R. Wellburn // Biochem. Soc. Trans. – 1987. – Vol.11. – № 5. – P.591–592.
13. Гринкевич, Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич // Москва: "Высшая школа". – 1983 – С. 175.
14. Алёхина, Н.Д. Физиология растений / Н.Д. Алёхина, Ю.В. Балнокин, В.Ф. Гавриленко. – Москва: Издательский центр "Академия". – 2007. – 640с.

Адрес для корреспонденции:

375025, Республика Армения,
г. Ереван, ул. Корюна, 2,
Ереванский государственный
медицинский университет
им. Мхитара Гераци,
эл. адрес: scienc@yusmi.am,
Карапетян Т.Д.

Поступила 08.07.2013 г.

О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МЕХАНОХИМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ СЫРЬЯ
НА ЭКСТРАКЦИЮ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ И ТЕКСТУРУ
КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО**

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Изучено влияние механохимической обработки корневищ с корнями сабельника болотного на содержание в них биологически активных веществ. Механохимическая активация корневищ с корнями сабельника болотного сопровождается изменением соотношения фракций проантоцианидинов в сторону увеличения неэкстрагируемых

форм. Добавка сульфита натрия приводит к образованию механокомпозиата с повышенной устойчивостью к экстракции экстрагируемых проантоцианидинов. Проведение механохимической активации корневищ с корнями сабельника болотного позволяет увеличить степень извлечения экстрагируемых проантоцианидинов.

Механохимическая обработка сырья не приводит к качественным изменениям состава проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного.

Выявлены закономерные изменения параметров текстуры с изменением времени механоактивации, что может использоваться для экспрессного и неdestructивного способа контроля параметров измельчения без проведения ситового или химического анализов.

Ключевые слова: сабельник болотный, проантоцианидины, экстрагируемые и неэкстрагируемые проантоцианидины, механохимическая обработка, текстура.

ВВЕДЕНИЕ

Основная часть биологически активных веществ растения находится в клетках. Скорость экстракции и выход продукта определяются диффузией растворителя в частицах растительного сырья. Для максимально эффективной экстракции клетки должны быть разрушены. Для разрушения клеток и ускорения диффузионных процессов используют механическую обработку сырья [1].

Механохимия используется с целью синтеза непосредственно в мельнице, смягчений условий синтеза традиционными методами, придания требуемых эксплуатационных свойств (активность, прочность). Применяется при производстве сорбентов и катализаторов, продуктов растениеводства и животноводства, промышленно выращиваемых микроорганизмов, отходов лесоперерабатывающей промышленности, растительного сырья [2].

Механическая активация приводит к уменьшению размера частиц и сокращению диффузионных путей, что должно благоприятно сказываться на процессе экстракции. Однако некоторые органические соединения, особенно сложного строения, могут быть неустойчивы в ходе интенсивной механической обработки.

Цель: выявление зависимостей, протекающих при механохимической активации корневищ с корнями сабельника болотного, а также изучение изменений структуры полученных порошков растительного сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве исходного сырья использовали корневища с корнями сабельника болотного, кислоту аскорбиновую «ч.д.а.», сульфит натрия «ч.д.а.».

Механохимическую активацию проводили в мельнице пружинного типа. Время обработки 0-20 минут. Также проводили механоактивацию корневищ с корнями сабельника болотного с добавлением кислоты аскорбиновой (5% от массы сырья) и добавок сульфита натрия (5% от массы сырья).

Для определения физико-химических последствий механохимической активации проводили экстракцию образцов, полученных в различных условиях. Исходный образец, образец, механически обработанный без добавок, и образцы, активированные добавками, анализировали спектрофотометрическим методом (содержание экстрагируемой, неэкстрагируемой суммы проантоцианидинов, суммы фенольных соединений), методом тонкослойной хроматографии [3].

Для изучения параметров текстуры порошки образцов, подвергнутых механохимической активации, сканировали (сканер EPSON Perfection 1270 в режиме: 24 бит, 400 dpi). Полученные изображения обрабатывали с помощью программы ImageJ ver. 1.41 h, используя подпрограмму GLCM Texture Tool для анализа текстуры. Определяли параметры изображений [4–9]:

Энергия (Energy) – показатель однородности;

Энтропия (Entropy) – показатель беспорядочности;

Обратный момент разности (Inverse Difference Moment) – показатель однородности;

Инерция (Inertia) – показатель контрастности;

Корреляция (Correlation) – параметр корреляции элементов матрицы;

Оттенок (Shade);

Выпуклость (Prominence);

Контраст (Contrast) – показатель локального изменения интенсивности;

Второй угловой момент (Angular Second Moment-- ASM). ASM – параметр однородности;

Дисперсия (Variance) – параметр разброса от среднего значения;

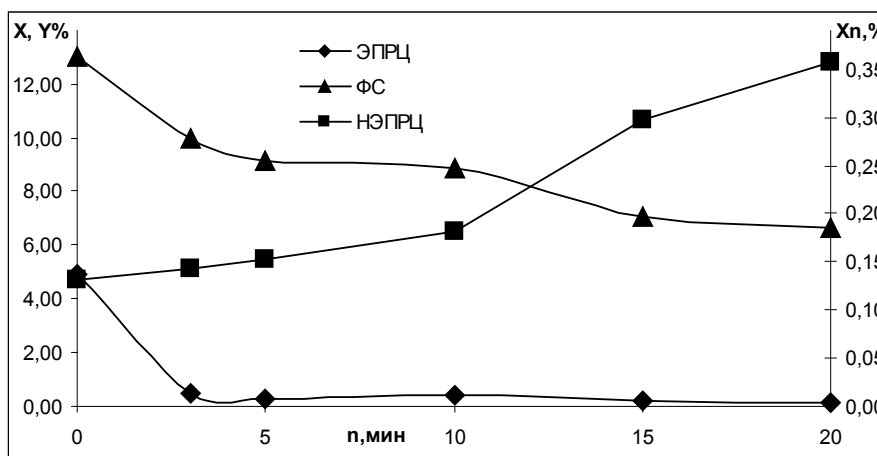
Гомогенность (Homogeneity) – показатель однородности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены результаты количественного определения экстрагируемой суммы проантоцианидинов (ЭПРЦ), неэкстрагируемой суммы проантоцианидинов

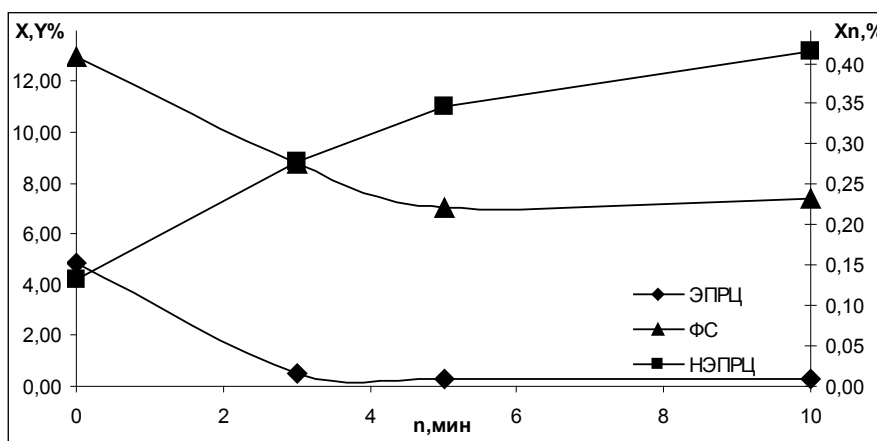
(НЭПРЦ), суммы фенольных соединений (ФС) при механической активации корневищ с корнями сабельника болотного. При механической обработке корневищ с корнями сабельника болотного содержание экстрагируемых проантоцианидинов резко снижается, в то время как содержание неэкстрагируемой суммы проантоцианидинов увеличивается.

Механохимическая активация корневищ с корнями сабельника болотного с добавкой сульфата натрия приводит к образованию механокомпозиата с повышенной устойчивостью к экстракции экстрагируемых проантоцианидинов (ЭПРЦ) (рисунок 2).



X,% (левая ось ординат) – экстрагируемая сумма проантоцианидинов; Y,% (левая ось ординат) – сумма фенольных соединений; Xn,% (правая ось ординат) – неэкстрагируемая сумма проантоцианидинов

Рисунок 1 – Содержание в корневищах с корнями сабельника болотного биологически активных веществ в зависимости от времени обработки в мельнице (n,мин)

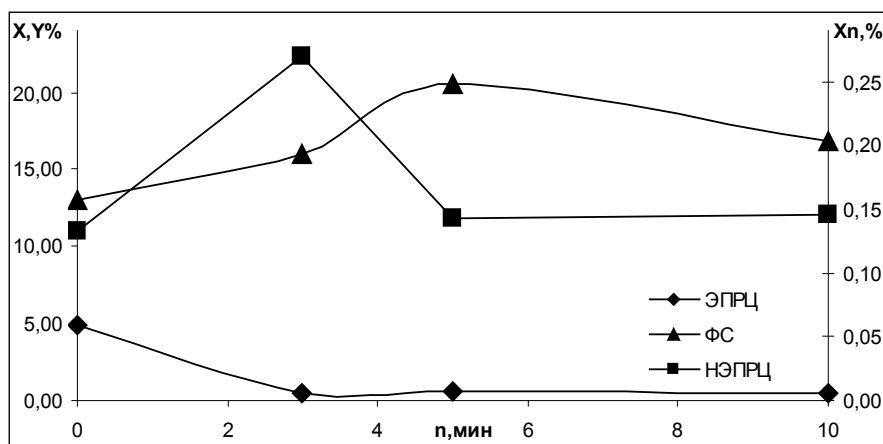


X,% (левая ось ординат) – экстрагируемая сумма проантоцианидинов; Y,% (левая ось ординат) – сумма фенольных соединений; Xn,% (правая ось ординат) – неэкстрагируемая сумма проантоцианидинов

Рисунок 2 – Содержание в корневищах с корнями сабельника болотного биологически активных веществ в зависимости от времени обработки в мельнице (n,мин) с добавкой сульфата натрия

Обнаружено, что продукты механохимической активации корневищ с корнями сабельника болотного с аскорбиновой кислотой обладают повышенным выходом фенольных соединений в процессе экстракции (рисунок 3). С помощью механохимической обработки корневищ с корнями сабельника болотного с аскорбиновой кислотой в течение 5 минут можно увеличить выход фенольных соединений (мономер-

ных катехинов) на 50%. Кинетика экстракции мономерных катехинов формируется двумя разнонаправленными процессами: извлечением катехинов из растительного сырья и деградацией катехинов в растворе. При механохимической активации с аскорбиновой кислотой образуется в твердой фазе механокомпозит с повышенной устойчивостью к деградации мономерных катехинов в растворе.



X, % (левая ось ординат) – экстрагируемая сумма проантоцианидинов; Y, % (левая ось ординат) – сумма фенольных соединений; Xn, % (правая ось ординат) – неэкстрагируемая сумма проантоцианидинов

Рисунок 3 – Содержание в корневищах с корнями сабельника болотного биологически активных веществ в зависимости от времени обработки в мельнице (n, мин) с добавкой аскорбиновой кислоты

При сравнении образцов (таблица 1) исходного растительного сырья (№1) и механически обработанного в течение 3 минут (№4) видно, что механическая обработка резко снижает содержание в корневищах с корнями сабельника болотного

экстрагируемых проантоцианидинов. Добавление аскорбиновой кислоты (№ 2,5) и сульфита натрия (№ 3,6) не влияет на выход проантоцианидинов при проведении экстракции и механохимической активации.

Таблица 1 – Выход экстрагируемых проантоцианидинов (\bar{X} , %) в зависимости от вида экстракции и механохимической обработки (n=3, P=0,95)

№	Обработка/вид экстракции	\bar{X} , %
1	Исходное сырье, исчерпывающая экстракция	4,89
2	Исходное сырье, исчерпывающая экстракция с 5% аскорбиновой кислоты	4,82
3	Исходное сырье, исчерпывающая экстракция с 5% сульфита натрия	4,80
4	Механохимическая активация без добавок в течение 3 мин	0,45
5	Механохимическая активация с 5% аскорбиновой кислоты в течение 3 мин	0,53
6	Механохимическая активация с 5% сульфита натрия в течение 3 мин	0,50

Также были изучены изменения структуры (текстуры) порошков корневищ с корнями сабельника болотного при механохимической обработке (рисунок 4).

При изучении текстуры порошков достоверно значимыми параметрами были:

второй угловой момент (ASM), обратный момент разности (IDM), контраст (Contrast), энергия (Energy), энтропия (Entropy), гомогенность (Homogeneity), дисперсия (Variance), инерция (Inertia), корреляция (Correlation). Как видно из

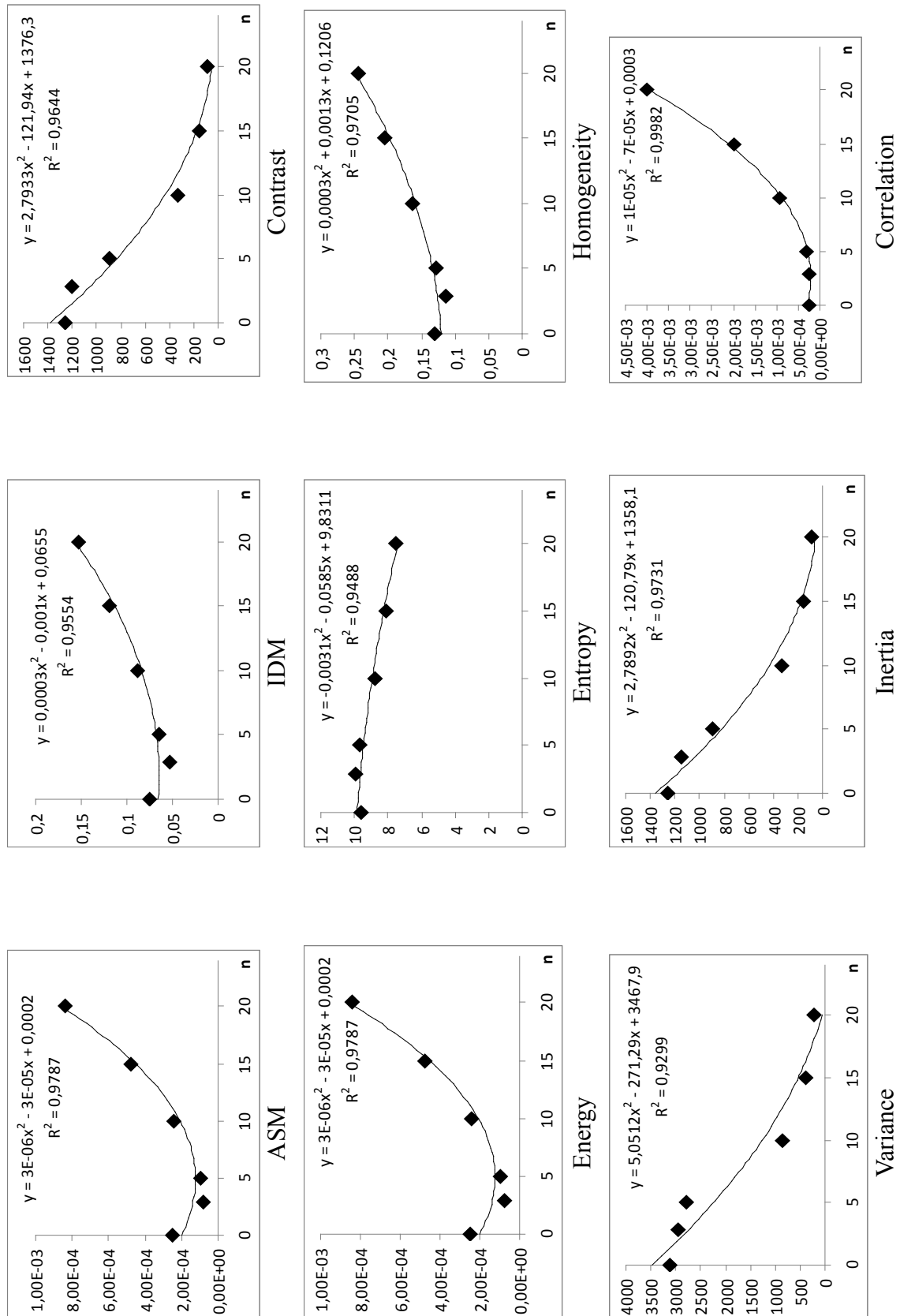


Рисунок 4 – Зависимость показателей текстуры от времени (n, мин) механохимической активации корневищ с корнями сабельника болотного

данных, представленных на рисунке 4, параметры, характеризующие текстуру, закономерно изменяются при изменении времени механохимической обработки сабельника болотного. Данный факт представляет значительный интерес при разработке неструктивного экспресс-метода для определения времени для измельчения до необходимой степени.

Все порошки корневищ с корнями сабельника болотного, подвергнутых механохимической активации, исследовали методом тонкослойной хроматогра-

фии. На хроматограммах всех исследованных образцов обнаруживали четыре зоны темно-синего цвета (фенольные соединения). Таким образом, при всех видах механохимической активации в качественном составе корневищ с корнями сабельника болотного изменений не происходит, а порошок образуется без деградации целевых соединений.

Измельчение корневищ с корнями сабельника болотного протекает в течение 10 минут измельчения (таблица 2, рисунок 5).

Таблица 2 – Процент фракций сырья, прошедшего через сито (измельченность)

Диаметр пор сита, мкм	Время измельчения сырья, мин				
	3	5	10	15	20
1000	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
800	98,9	99,0	100,0	100,0	100,0
500	95,7	95,4	100,0	100,0	100,0
315	80,3	76,8	94,5	97,0	99,0
250	59,9	51,4	84,3	91,1	96,3
160	40,1	31,5	71,7	78,8	86,2
80	21,5	14,7	33,0	29,1	2,7
0 (дно)	4,3	3,0	2,6	0,0	0,0

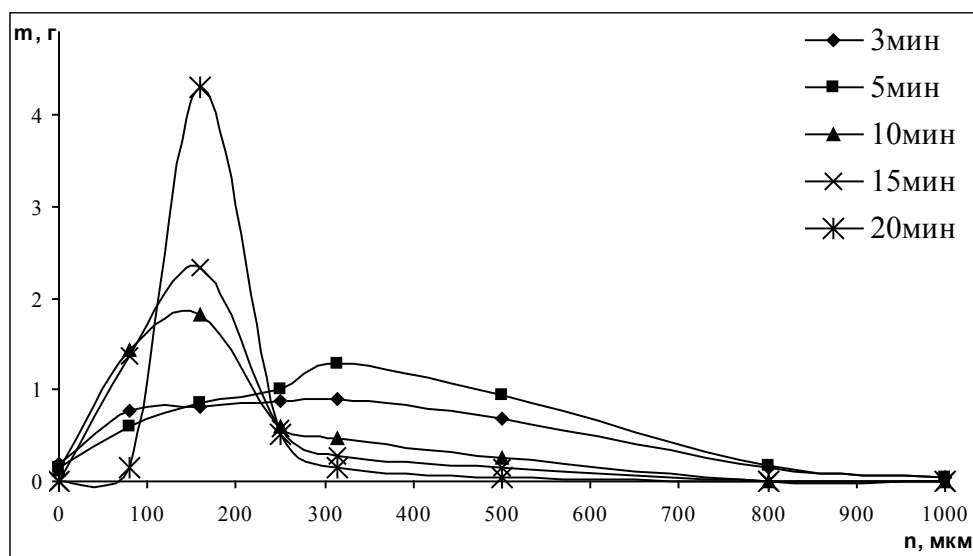


Рисунок 5 – Зависимость массы сырья (m, г), не прошедшего через сито, от размера пор сита (n, мкм)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механохимическая активация корневищ с корнями сабельника болотного приводит к изменению соотношения фракций проантоцианидинов в сторону увеличения неэкстрагируемых форм. При механохимической активации с добавкой сульфита

натрия образуется механокомпозит с повышенной устойчивостью к экстракции экстрагируемых проантоцианидинов. Отмечены закономерные изменения параметров текстуры с изменением времени механоактивации, что может быть использовано для экспрессного и неструктивного способа контроля параметров порошко-

ванного продукта без проведения ситового или химического анализов.

SUMMARY

O.A. Yorshyk, G.N. Buzuk
THE INFLUENCE OF CONDITIONS
OF THE MECHANICAL TREATMENT
ON EXTRACTION OF PROANTHO-
CYANIDINS AND TEXTURE
OF RHIZOMES WITH ROOTS
OF *COMARUM PALUSTRE* L.

The influence of mechanochemical treatment of powders of rhizomes with roots of *Comarum palustre* L. on the content in them the biologically active substances was studied.

The mechanochemical treatment of rhizomes with roots of *Comarum palustre* L. is accompanied by change in the fraction ratio of proanthocyanidins in the direction of increasing of non-extractable forms. The addition of sodium sulfite leads to the formation of mechanocomposite with increased stability to extraction of extractable proanthocyanidins. The conducting of mechanochemical activation of rhizomes with roots of *Comarum palustre* L. can increase the degree of extraction of extractable proanthocyanidins.

The mechanochemical treatment of raw material does not lead to the qualitative change of proanthocyanidins of rhizomes with roots of *Comarum palustre* L.

Natural changes of texture parameters are revealed with change of mechanical activation time which can be used for rapid test and non-destructive method for controlling of grinding parameters without screen or chemical analyzes.

Keywords: *Comarum palustre* L., proanthocyanidins, extractable and non-extractable proanthocyanidins, mechanochemical treatment, texture.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ломовский, И.О. Влияние условий механохимической обработки на экстракцию гиперина из травы зверобоя / И.О. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2012. – № 3. – С. 93–99.

2. Новые методы получения химиче-

ских продуктов из биомассы деревьев стибирских пород / Б.Н. Кузнецов [и др.] // Рос. хим. ж. – 2004. – Т. XLVIII. – № 3. – С. 4–20.

3. Ёршик, О.А. Влияние условий термической обработки сырья на экстракцию проантоцианидинов из корневищ с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2014. – № 1. – С. 10–17.

4. Haralick, R.M. Statistical and structural approaches to texture / R.M. Haralick // Proceedings of IEEE. – 1979. – Vol. 67. – N 5. – P. 786–804.

5. Haralick, R.M. Texture parameters for image classification / R.M. Haralick, K. Shanmugam, I. Dinstein – IEEE Trans SMC. – 1973. – Vol. 3. – P. 610–621.

6. Walker, R.F. Improving co-occurrence matrix feature discrimination / R.F. Walker, P. Jackway, I.D. Longstaff. In: Proceedings of the 3rd Conference on Digital Image Computing: Techniques and Applications (DICTA '95); 1995 December 6–8; Brisbane, Australia, 1995. – P. 643–648.

7. Haralick, R.M. Textural features for image classification. IEEE / R.M. Haralick, K. Shanmugam, I. Dinstein. Trans Syst Man Cybern 1973; SMC–3:610–621.

8. Кузьмичева, Н.А. Текстура поверхности и цвет в макроскопическом анализе листьев / Н.А. Кузьмичева, Г.Н. Бузук, Н.А. Горковчук // Вестник фармации. – 2013. – № 4. – С. 17–27.

9. Бузук, Г.Н. Цветометрический и денситометрический методы анализа в стандартизации таблеток «Аскорутин» и «Рутаскорбин» / Г.Н. Бузук, Н.А. Кузьмичева // Вестник фармации. – 2011. – № 3. – С. 12–18.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра фармакогнозии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-09-29,
Ёршик О.А.

Поступила 23.01.2013 г.

Н.А. Кузьмичева

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ ГРУШАНОК

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

*Проведен макроскопический, хроматографический и количественный химический анализ травы трех видов грушанок, произрастающих в Республике Беларусь: *Pyrola rotundifolia*, *P. media* и *P. minor*. Выделены морфологические диагностические признаки, касающиеся в основном формы листовой пластинки и строения пестика. Предложена методика ТСХ-анализа, позволяющая проводить идентификацию видов грушанок по флавоноидному составу, в то время как состав фенолгликозидов в изученных видах практически идентичен. Количественное содержание флавоноидов в траве грушанок превышает 2%, содержание проантоцианидинов находится в пределах 8–15%. Содержание арбутина в траве грушанки круглолистной и грушанки средней составляет 4,5% и более, что позволяет рекомендовать эти виды в качестве перспективного источника лекарственного растительного сырья, аналогичного листьям брусники.*

*Ключевые слова: *Pyrola*, тонкослойная хроматография, денситометрия, арбутин, флавоноиды, проантоцианидины.*

ВВЕДЕНИЕ

В научной медицине в качестве уро-септического и мочегонного средства широко используются листья толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной. Основными носителями фармакотерапевтического действия листьев толокнянки являются фенольные соединения: арбутин, флавоноиды, дубильные вещества. Потребность в листьях толокнянки и брусники удовлетворяется не более, чем на 50%, поскольку значительно истощены заросли в традиционных районах сбора [1].

В связи с этим возникла необходимость поиска новых растительных диуретиков, которые бы пополнили ресурсные возможности и устранили дефицит сырья в данной группе лекарственных средств. Перспективными в этом отношении являются ортилия однобокая, грушанка круглолистная и зимолобка зонтичная – растения семейства грушанковых, листья которых содержат арбутин, флавоноиды, дубильные вещества.

В Республике Беларусь растения семейства грушанковых широко распространены, встречаются нередко в хвойных и смешанных лесах. Наиболее известна ортилия однобокая *Orthilia secunda* L. (House) или рамишия однобокая – *Ramischia secunda* (L.) Garcke, которая присутствует в аптечном ассортименте в виде БАДов к пище под названием боровая матка. Род *Pyrola* (грушанка) самый

многочисленный в этом семействе и представлен в белорусской флоре 4 видами: г. зеленая, г. круглолистная, г. малая и г. средняя [2].

Листья, цветки и стебель растения содержат дубильные вещества, иридоиды (монотропеин), тритерпеноиды (тараксерол, урсоловую кислоту), фенольные гликозиды (арбутин, метиларбутин, гидрохинон, гомоарбутин, изогомоарбутин, пирозазиды А и В, ренифолин, эриколин), а также флавоноиды (кемпферол, дигидрокверцетин, катехины), галловую кислоту, витамины, микроэлементы (магний, цинк, медь, барий и др.), эфирные масла и смолы. В корнях обнаружены стероиды, гликозиды, хиноны (нафтохинон, химафилин) и органические кислоты [3, 4].

В народной медицине используют листья и траву грушанки в качестве мочегонного, антисептического, противовоспалительного, кровоостанавливающего, желчегонного, вяжущего, болеутоляющего и ранозаживляющего средства. При некоторых формах диабета грушанка снижает содержание сахара в крови, улучшает аппетит и нормализует процессы пищеварения [4].

Экстракты грушанки, помимо основного своего действия, могут применяться при заболеваниях полости рта. Причем это связано не только с заживлением слизистой ротовой полости, но, что особенно интересно, с исключительно стойким

дезодорирующим эффектом, в результате чего настои грушанки стали употреблять как самостоятельный напиток для освежения дыхания. Экстракты грушанки обладают очень высокой и избирательной антибактериальной активностью в отношении гнилостных микроорганизмов, которые в основном и вызывают образование дурного запаха изо рта, значительно усиливают местное кровообращение в полости рта, оказывают вяжущее и анестезирующее действие на слизистую оболочку полости рта и таким образом способствуют заживлению слизистой и укреплению десен [5].

Экспериментально установлено, что отвары листьев грушанки круглолистной в дозе до 10 г/кг не обладают острой токсичностью. Проявляют выраженную антимикробную активность в отношении различных групп микроорганизмов, выделенных от пациентов с хроническими пиелонефритами: представителей семейства энтеробактерий, псевдомонад, стафилококков, грибов рода Кандида. Обладают отчетливым противовоспалительным действием на моделях экссудативного и пролиферативного воспаления, а также существенным диуретическим и натриуретическим действием. Отвар листьев грушанки проявляет отчетливую терапевтическую эффективность при экспериментальном гломерулонефрите [1].

Фармакологические эффекты грушанки сходны с классическими видами лекарственных растений, издавна применяемых для лечения урологических заболеваний (толокнянка, брусника), и вместе с тем грушанки обладают более выраженным противовоспалительным действием, что является очень желательным при лечении заболеваний мочевыделительных органов.

В Республике Беларусь грушанки не разрешены к медицинскому применению в установленном порядке, однако заслуживают обстоятельного изучения как перспективное средство лечения заболеваний мочевыводящих путей в качестве дополнения и частичной замены листьев брусники и толокнянки, которые нуждаются в охране из-за сокращения ресурсов.

Целью настоящего исследования является проведение фармакогностического анализа грушанок, произрастающих в Республике Беларусь.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы травы грушанки круглолистной (*Pyrola rotundifolia* L.), г. средней (*P. media* Sw.) и г. малой (*P. minor* L.) собраны в фазу цветения – начала плодоношения в Брестской и Гродненской областях. Сушка воздушно-тенева. Макроскопический анализ проводили по методике ГФ РБ. Из показателей доброкачественности были определены потеря в массе при высушивании и содержание действующих веществ. Методики фитохимического анализа адаптировались к данному виду сырья на основе имеющихся в литературе [6 – 8].

Получение извлечения. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 70% этанола. Колбу с содержимым соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа, затем охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 50,0 мл. Вату промывали небольшим количеством 70% этанола и доводили им же до метки (раствор А).

Около 0,1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в стеклянный флакон вместимостью 10 мл, прибавляли 5 мл воды очищенной, закрывали пробками, помещали в специальное устройство для герметизации и нагревали на кипящей водяной бане в течение 40 минут. К горячему извлечению прибавляли 0,1 г основного ацетата свинца, перемешивали и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 7 минут. Центрифугат переносили в сухие флаконы (раствор Б).

Хроматографический анализ. Для хроматографического анализа использовали пластинки TLC Silicagel 60 F₂₅₄ Merck и TLC Cellulose Merck KGaA. В качестве стандартов использовали водный раствор арбутина-стандарта в концентрации 500 мкг/мл и этанольный раствор рутина-стандарта в концентрации 500 мкг/мл. Условия хроматографирования были следующие:

1) по 3 мкл извлечений (растворы Б) и арбутина-стандарта 500 мкг/мл наносили на пластинки с силикагелем, помещали в камеру с системой растворителей этилацетат-метанол-вода (30:4:3), после прохождения фронтом растворителей 10 см пластинки высушивали, обрабатывали 0,5% раствором 2,6-дихлорхинон-4-хлоримида

в метаноле и выдерживали в парах аммиака в течение 2 минут;

2) по 4 мкл извлечений (растворы А) наносили на пластинки с силикагелем, хроматографировали в системе растворителей этилацетат – муравьиная кислота – вода (7:1:1); после высушивания просматривали пластинки в УФ-свете до и после обработки 2-аминоэтиловым эфиром дифенилборной кислоты.

Определение содержания фенолгликозидов. Содержание суммы фенолгликозидов в пересчете на арбутин определяли методом прямой спектрофотометрии растворов Б при длине волны 285 нм [6].

Содержание арбутина и суммы фенолгликозидов определяли также в растворах Б денситометрическим способом, разработанным для листьев брусники. Хроматограммы извлечений из трех видов грушанок, обработанные 0,5% раствором 2,6-дихлорхинон-4-хлоримида в метаноле и выдержанные в парах аммиака в течение 2 минут, сканировали (сканер EPSON Perfection 1270 в режиме: RGB, 24 бит, 400 dpi). Полученное цифровое изображение обрабатывали с помощью компьютерной программы ImageJ ver.1.41 h обработки изображений. В качестве стандарта использовали арбутин-стандарт [7].

Определение содержания суммы флавоноидов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин определяли методом дифференциальной спектрофотометрии растворов А при длине волны 410 нм с использованием алюминия хлорида в качестве комплексообразователя [8]. В качестве стандарта использовали Рутин-стандарт Rotichrom Art.7176.1, оптическую плотность растворов определяли через 40 минут после приготовления растворов.

Определение содержания суммы проантоцианидинов. Содержание суммы проантоцианидинов в пересчете на цианидин определяли методом дифференциальной спектрофотометрии растворов А с использованием нагревания в среде 5% кислоты хлористоводородной в бутаноле по методике определения проантоцианидинов в корневищах с корнями сабельника болотного [8].

Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-26. Данные подвергали статистической обработке с использованием программы Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Трава грушанки малой представлена прикорневыми листьями и цветочными стрелками длиной от 10 до 18 см, цельными или частично измельченными, плотными. Стебли безлистные или с 1-2 чешуевидными листочками, тонко-ребристые, диаметром до 1 мм, не ветвистые. Листья на длинных черешках, скучены при основании стебля, продолговато-овальные с острой верхушкой, цельнокрайние, матовые, жесткие, длиной от 1,6 до 5,0 см и шириной от 1,2 до 3,0 см. Жилкование перисто-сетчатое, главная жилка слегка выступает с верхней и нижней стороны листа. Черешки длиной около 2 см, сверху желобоватые, голые, зеленые. Соцветие – разносторонняя кисть, количество цветков от 7 до 15. Венчик белый или розовый, шаровидный, почти замкнутый. Столбик прямой, не выдается из венчика. Кольцеобразное утолщение под рыльцем отсутствует. Плод – повислая коробочка, длиной до 5 мм, шириной до 7 мм. Запах слабый. Вкус слегка вяжущий.

Трава грушанки средней отличается формой листьев и строением цветка. Листья округлые или овальные, неясно-городчатые, до 3 см длиной. Венчик полуоткрытый, до 8 мм в диаметре, белый, к основанию розоватый. Чашелистики с отогнутыми верхушками, треугольные (длина долей немного больше ширины). Столбик выдается из венчика, слегка отклоненный книзу, наверху расширен в кольцо, которое шире сидящего над ним 5-лопастного рыльца.

Трава грушанки круглолистной состоит из стеблей с верхушечным кистеобразным соцветием и прикорневых листьев. Длина стеблей от 15 до 30 см, толщина до 3 мм. Листья на длинных черешках, округлые или овальные, кожистые, сверху блестящие, до 6 см в диаметре. Край неясно городчатый или листья цельнокрайние. Листья могут быть как текущего года, так и перезимовавшие. Соцветие – разносторонняя 8-15-цветковая кисть. Прицветники равны цветоножкам или длиннее их. Венчик белый, широко раскрытый, диаметром до 2 см. Столбик длиннее венчика, криво изогнут и резко отклонен вниз, на верхушке с кольцеобразным утолщением. Чашелистики продолговатые, почти ланцетные, с отогнутыми краями. Запах слабый. Вкус слегка вяжущий.

Таким образом, можно выделить диагностические признаки, позволяющие отличить изученные три вида грушанок (таблица 1).

Хроматографический анализ. При хроматографии извлечений Б в системе этилацетат-метанол-вода (30:4:3) после обработки фенолгликозиды проявлялись в виде пятен синего цвета на розовом фоне. Все виды грушанок имеют в своем составе два одинаковых фенолгликозида, один из кото-

рых по хроматографическому поведению идентичен арбутину (R_f арбутина = 0,44), другой фенолгликозид имеет $R_f = 0,57$. Для большей наглядности полученные хроматограммы сканировали и обрабатывали с помощью программы Image. Денситограммы представлены на рисунке 1.

Для сравнения, трава ортилии однобокой содержит дополнительный фенолгликозид, проявляющийся в виде пятна синего цвета с $R_f = 0,60$ (рисунок 2).

Таблица 1 – Диагностические признаки травы трех видов грушанок

Диагностические признаки	Грушанка малая	Грушанка средняя	Грушанка круглолистная
Форма листовой пластинки	продолговато-овальные с острой верхушкой	округлые или овальные	округлые или овальные
Венчик	шаровидный	полуоткрытый, диаметром до 8 мм	широко раскрытый, диаметром до 2 см
Чашелистики	треугольные	широко-треугольные	продолговатые, почти ланцетные
Столбик	прямой, не выдается из венчика	выдается из венчика, слегка отклоненный книзу	длиннее венчика, криво изогнут и резко отклонен вниз
Кольцеобразное утолщение на столбике	нет	есть	есть

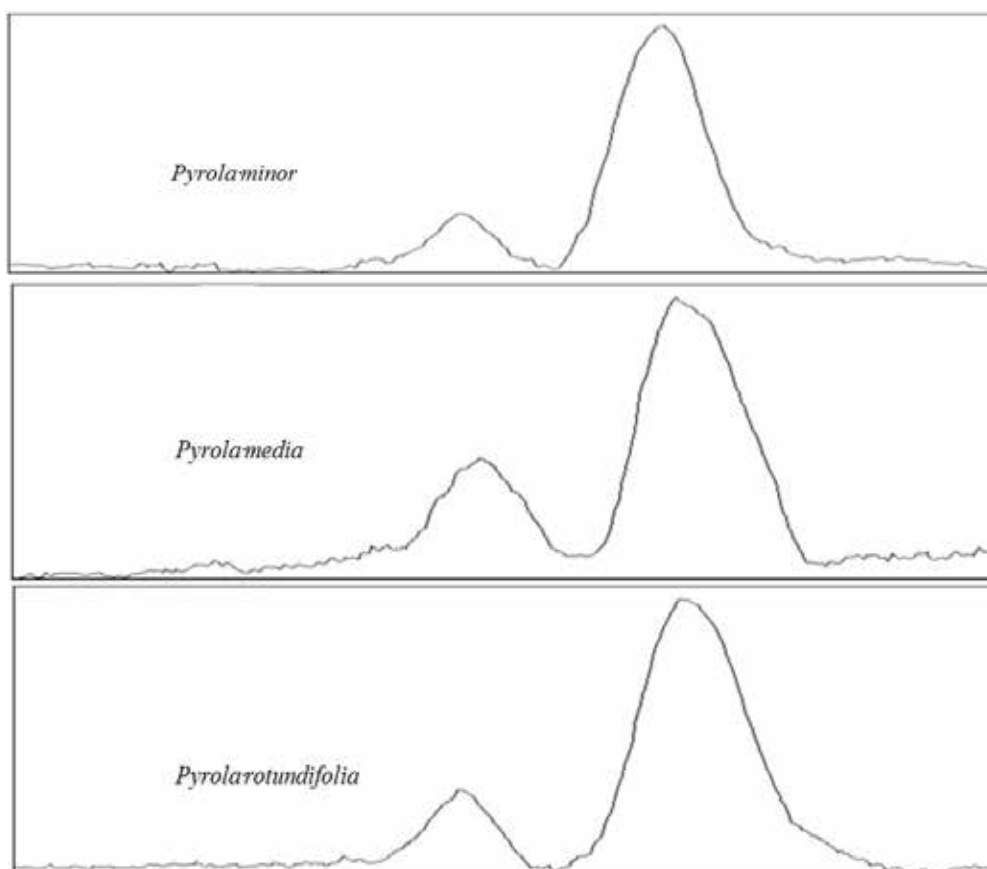


Рисунок 1 – Денситограммы фенолгликозидов травы грушанок

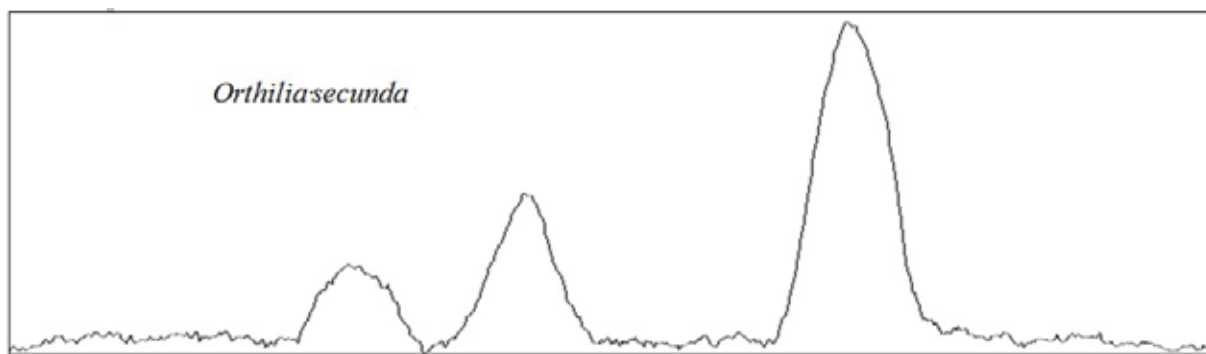


Рисунок 2 – Денситограмма фенолгликозидов травы ортилии однобокой

При хроматографии извлечений А в системе этилацетат–муравьиная кислота–вода (7:1:1) в УФ-свете обнаруживаются коричневые пятна флавоноидов, которые после обработки 2-аминоэтиловым эфиром дифенилборной кислоты становятся ярко-желтыми в видимом свете и темно-желтыми в УФ-свете. По составу флавоноидов наиболее близки г. малая и г. круглолистная. Обнаружены два основных флавоноида с $R_f = 0,60$ и $R_f = 0,66$, которые у *P. rotundifolia* находятся прибли-

зительно в равных количествах, а у *P. minor* второй преобладает, а также два дополнительных вещества флавоноидной природы с $R_f = 0,83$ и с $R_f = 0,89$. У грушанки средней представлены только два флавоноида: с $R_f = 0,60$ и $R_f = 0,83$.

Для большей наглядности различий в составе флавоноидов трех видов грушанок полученные хроматограммы сканировали и обрабатывали с помощью программы Image. Денситограммы представлены на рисунке 3.

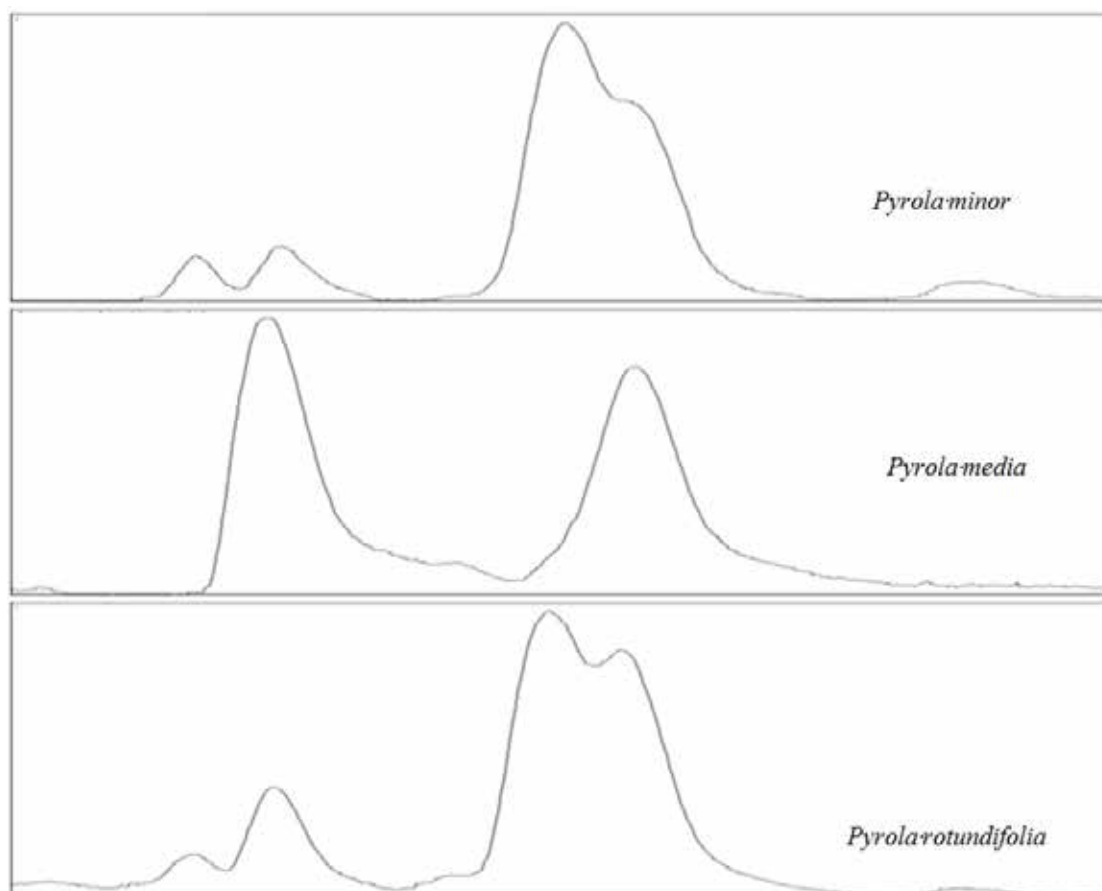


Рисунок 3 – Денситограммы суммы флавоноидов трех видов грушанок

Количественное содержание действующих веществ. Результаты количественного определения действующих веществ в траве грушанок представлены в таблице 2.

Наибольшее содержание арбутина и флавоноидов обнаружено в траве грушанки средней (4,9% и 2,5%, соответственно). Не-

сколько меньше их содержание в траве грушанки круглолистной (4,5% и 2,0%, соответственно). По содержанию проантоцианидинов соотношение изученных видов другое: максимальное количество накапливается в траве грушанки малой (15,4%), затем следует трава грушанки средней (12,4%) и трава грушанки круглолистной (8,3%).

Таблица 2 – Количественное содержание арбутина, суммы флавоноидов и проантоцианидинов в траве трех видов грушанок

Виды грушанок	Содержание, %		
	арбутина	флавоноидов	проантоцианидинов
<i>P. minor</i>	3,28±0,10	1,92±0,06	15,39±0,58
<i>P. media</i>	4,86±0,18	2,52±0,09	12,41±0,44
<i>P. rotundifolia</i>	4,48±0,16	1,96±0,04	8,34±0,31

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трава грушанки малой, средней и круглолистной отличается в основном формой листовой пластинки и строением цветка. Хроматографический анализ извлечений из травы грушанок позволяет хорошо различать их между собой по флавоноидному составу, в то время как состав фенолгликозидов в изученных видах практически идентичен.

Содержание арбутина в траве грушанки средней и круглолистной составляет 4,5% и более, что позволяет рекомендовать эти виды в качестве перспективного источника лекарственного растительного сырья, аналогичного листьям брусники и толокнянки. Содержание флавоноидов в листьях изученных видов грушанок превышает 2%, содержание проантоцианидинов находится в пределах 8-15%.

Максимальное количество действующих веществ накапливается в траве грушанки средней, которую и следует рекомендовать для дальнейшего изучения.

SUMMARY

N.A. Kuzmichova PHARMACOGNOSTIC ANALYSIS OF HERB OF *PYROLA* SPECIES

A macroscopic, chromatographic and quantitative chemical analysis of herb of three *Pyrola* species that grow in Republic of Belarus (*Pyrola rotundifolia*, *P. media* и *P. minor*) were carried out. A morphological diagnostic marks primarily concerning leaf shape and pistil structure were distinguished. The methods of TLC analysis that allow to conduct identifi-

cation of *Pyrola* species by flavonoid content was proposed, while phenolglycoside content of researched species is identical. Flavonoid content in *Pyrola* herb exceeds 2%, proanthocyanidin content falls within 8-15%. Arbutin content in *Pyrola rotundifolia* and *P. media* herb reach 4,5% and more, that allows to recommend these species as perspective source of herb raw materials similar to *Vitis idaeae folia*.

Keywords: *Pyrola*, thin layer chromatography, densitometry, arbutin, flavonoids, proanthocyanidins.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пензина, Т.Н. Фармакологическая активность некоторых растений семейства грушанковых: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Т.Н. Пензина. – Барнаул, 1999. – 24 с.
2. Определитель высших растений Беларуси / под ред. В.И. Парфенова. – Минск: Дизайн Про, 1999 г. – 471 с.
3. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. Семейства Actinidiaceae - Malvaceae, Euphorbiaceae, Haloragaceae / Отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – 513 с.
4. Мазепина, Л.С. Фитохимическое изучение листьев грушанки круглолистной / Л.С. Мазепина, М.С. Коротяева, Ю.А. Джурко // Актуальные проблемы фармации: Межрегиональный сб. науч. труд. Рязань, 2006. – С. 157 – 159.
5. Грушанка круглолистная – долгая свежесть дыхания // [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://manager.dreambiz.e>

gloryon.com/4567932117. – Дата доступа: 18.12.2013.

6. Фурса, Н.С. Содержание арбутина в траве вереска обыкновенного / Н.С.Фурса, С.В.Онегин // Фармация. – 2007. – №6. – С. 12–14.

7. Иванкова, М.Н. Количественное определение арбутина в листьях брусники видеоденситометрическим методом и методом ВЭЖХ / М.Н. Иванкова // Достижения фундаментальной медицины и фармации. Материалы 67-ой научной сессии сотрудников университета. 2-3 февраля 2012 г. – Витебск: ВГМУ, 2012. – С. 276.

8. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Том 2. Контроль качества

вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ.ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Типография «Победа», 2008. – 472 с.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра фармакогнозии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8(0212) 37-09-29,
Кузьмичева Н.А.

Поступила 23.01.2014 г.

В.А. Куркин, Т.К. Рязанова

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ТОЛОКНЯНКИ, БРУСНИКИ И ЧЕРНИКИ

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Россия

*Предложены методики качественного анализа побегов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), листьев толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.) и брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) методом тонкослойной хроматографии. Для качественного анализа исходных извлечений из исследуемых видов лекарственного растительного сырья предлагается использовать систему растворителей *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2 об/об/об). Идентификация арбутина в лекарственном растительном сырье проводилась после твердофазной экстракции на оксиде алюминия и разделения в подвижных фазах хлороформ – 96% спирт этиловый – вода (26:16:3 об/об/об); хлороформ – 96% спирт этиловый (6:4 об/об). Детекция арбутина проводилась после обработки хроматограммы раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната в присутствии раствора стандартного образца арбутина.*

Ключевые слова: черника обыкновенная, *Vaccinium myrtillus* L., брусника обыкновенная, *Vaccinium vitis-idaea* L., толокнянка обыкновенная, *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., тонкослойная хроматография, арбутин.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в традиционной медицине используется значительное количество лекарственных растений [1,2,3]. При этом возникает проблема корректной диагностики лекарственного растительного сырья (ЛРС), определения морфологически схожих видов на этапе заготовительных мероприятий, при приемочном контроле сырья в цельном и особенно измельченном состоянии. В связи с

широким внедрением в практику различных современных методов качественного и количественного анализа, а также усовершенствованием инструментального оснащения, возрастают возможности для идентификации ЛРС. Это создает предпосылки для включения в нормативную документацию (фармакопейные статьи, фармакопейные статьи предприятий) хроматографических методов анализа извлечений из ЛРС.

К морфологически схожим видам ЛРС,

при идентификации которых могут возникнуть сложности, можно отнести листья брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L., сем. Брусничные – *Vacciniaceae*), листья толокнянки [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., сем. Вересковые – *Ericaceae*] и побеги черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L., сем. Брусничные – *Vacciniaceae*) [4,5]. При заготовке данные виды растений могут выступать примесными по отношению друг к другу, поскольку они имеют общий ареал и местообитание [6].

В литературных данных упоминаются различные составы подвижной фазы для анализа указанных видов лекарственных растений [хлороформ – 96% этиловый спирт (6:4), муравьиная кислота – вода – этилацетат (6:6:88), 15% уксусная кислота, 60% уксусная кислота, этилацетат – муравьиная кислота – вода (3:1:1)] [5,7,8]. Однако в трех последних системах значение R_f арбутина превышает 0,8, что не является оптимальным с точки зрения аналитической химии.

В связи с этим целью настоящего исследования являлось усовершенствование

существующих методов диагностики лекарственного растительного сырья черники обыкновенной, брусники обыкновенной и толокнянки обыкновенной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись:

– побеги черники обыкновенной, заготовленные в Пензенской области, Сосновоборский район, пос. Сосновоборск, 2012 г.;

– побеги черники обыкновенной, заготовленные в Республике Марий Эл, Волжский район, г. Волжск, 2013 г.;

– листья брусники обыкновенной, заготовленные в Республике Марий Эл, Волжский район, г. Волжск, 2013 г.;

– листья толокнянки обыкновенной, заготовленные в Республике Марий Эл, Волжский район, г. Волжск, 2012 г.

– стандартный образец арбутина (производства «Sigma-Aldrich», США).

Краткие обозначения используемых в ходе исследования материалов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика исследуемого растительного материала

№ п/п	Растительный материал	Район заготовки	Год заготовки	Экстракт
1.	Арбутин			
2.	Побеги черники обыкновенной	Пензенская область, Сосновоборский р-н, пос. Сосновоборск	2012 г.	40% спирт
3.	Побеги черники обыкновенной	Пензенская область, Сосновоборский р-н, пос. Сосновоборск	2012 г.	70% спирт
4.	Побеги черники обыкновенной	Пензенская область, Сосновоборский р-н, пос. Сосновоборск	2012 г.	96% спирт
5.	Побеги черники обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2013 г.	40% спирт
6.	Побеги черники обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2013 г.	70% спирт
7.	Побеги черники обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2013 г.	96% спирт
8.	Листья брусники обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2013 г.	40% спирт
9.	Листья брусники обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2013 г.	70% спирт
10.	Листья брусники обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2013 г.	96% спирт
11.	Листья толокнянки обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2012 г.	40% спирт
12.	Листья толокнянки обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2012 г.	70% спирт
13.	Листья толокнянки обыкновенной	Республика Марий Эл, Волжский р-н, г. Волжск	2012 г.	96% спирт

Приготовление извлечения. Для получения извлечения 0,50 г измельченного лекарственного растительного сырья помещали в колбу, добавляли 10 мл соответствующего экстрагента и нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 15 мин. Полученное извлечение охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр (марки «красная полоса»).

Приготовление раствора стандартного образца арбутина. Навеску арбутина массой 10,0 мг помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли около 15 мл спирта этилового 70% и встряхивали до полного растворения. Затем содержимое доводили спиртом этиловым 70% до метки.

Арбутин не детектируется при просмотре в видимом свете и не имеет яркой флуоресценции при воздействии УФ-светом (254 и 366 нм), поэтому для его обнаружения использовали раствор диазобензолсульфо кислоты в насыщенном растворе натрия карбоната. После обработки раствором диазобензолсульфо кислоты пятно, соответствующее арбутину, окрашивается в красный цвет, достаточно быстро обесцвечивается, особенно под воздействием высоких температур.

Подготовка проб с применением твердофазной экстракции. В стеклянный фильтр ПОР 100 или ПОР 160 диаметром 2–3 см насыпали алюминия оксид х.ч., нейтральный II по Брокману, «Реахим», до образования слоя высотой 0,6–1,0 см. Через полученный слой алюминия оксида пропускали 2,0 мл полученного извлечения в пенициллиновый флакон и промывали 5,0 мл 70% спирта этилового.

Определение оптимального состава подвижной фазы. Хроматографические пластины «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» перед использованием активировали в сушильном шкафу при температуре 110°C в течение 1 ч. На стартовую линию, проведенную на расстоянии 1,5 см от нижнего края, наносили 5 мкл РСО арбутина в виде пятна и по 6 мкл исходных извлечений и извлечений, очищенных фильтрацией через слой алюминия оксида. Расстояние между пятнами не менее 1 см. Пластины с нанесенными пробами высушивали на воздухе, затем помещали в хроматографическую камеру и хроматографировали восходящим способом.

В исследовании использовали следующие

составы подвижной фазы: хлороформ – 96% спирт этиловый (6:4); хлороформ – спирт этиловый 96% – вода (26:16:3) и *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2).

После хроматографии пластины вынимали из камеры, отмечали границу фронта, сушили на воздухе до исчезновения запаха растворителя, просматривали при видимом свете и в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм и обрабатывали проявляющим реактивом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было проведено предварительное сравнительное изучение экстракционной способности водно-спиртовых смесей с различной концентрацией спирта этилового (40%, 70% и 95%). Для этого 0,10 г сырья экстрагировали водно-спиртовыми смесями с соответствующей концентрацией спирта этилового и наносили на хроматографическую пластину по 10 мкл полученного извлечения в виде пятна. Разделение проводили в подвижных системах: хлороформ – спирт этиловый 96% – вода (26:16:3) и *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2). Хроматографические пластины после элюирования просматривали в видимом свете при воздействии УФ-света с длинами волн 254 и 366 нм и обрабатывали раствором диазобензолсульфо кислоты в насыщенном растворе натрия карбоната.

При просмотре при дневном свете для хроматограммы извлечения из листьев толокнянки была характерна интенсивная темноокрашенная полоса до значения $R_f \approx 0,55$ (рисунок 1, см. обложку журнала).

При просмотре под лампой с УФ-излучением 254 нм (рисунок 2, см. обложку журнала):

– для водно-спиртовых извлечений из исследуемых образцов побегов черники обыкновенной были характерны пятна со значениями $R_f \approx 0,41–0,42$ и $R_f \approx 0,15–0,16$;

– для извлечений из листьев брусники обыкновенной – пятна со значениями $R_f \approx 0,65–0,66$, $R_f \approx 0,58–0,59$ и $R_f \approx 0,15–0,16$;

– для извлечений из листьев толокнянки обыкновенной – пятно со значением $R_f \approx 0,57–0,58$.

После обработки раствором диазобензолсульфо кислоты эти же пятна окрашивались в различные цвета от желтого до

темно-коричневого. В побегах черники дополнительно проявлялось пятно со значением $R_f \approx 0,19-0,20$, а в толокнянке – пятно со значением $R_f \approx 0,63-0,64$ (рисунок 3, см. обложку журнала).

По предварительным оценкам, наибольшей экстракционной способностью обладают водно-спиртовые смеси с концентрацией спирта этилового 70% и 40%.

Как видно из приведенных рисунков 1–3, присутствие арбутина, являющегося одним из главных биологически активных соединений в листьях толокнянки и брусники, обуславливающих их основное фармакологическое действие, маскируется присутствием других соединений, также реагирующих с диазосоединениями. В указанных выше условиях хроматографического разделения (пробоподготовка, объем пробы и т.п.) арбутин в побегах черники обыкновенной не обнаруживается.

Для того чтобы подтвердить присутствие арбутина, нами были использованы другие подвижные фазы, описанные для анализа гидрохинона и его производных [5].

Однако, независимо от выбранного состава подвижной фазы, присутствие других компонентов фенольной природы пре-

пятствовало однозначной идентификации арбутина в лекарственном растительном сырье [4].

Из научных данных известно, что для количественного определения арбутина иногда применяют метод фильтрации через слой алюминия оксида с целью адсорбции мешающих компонентов (флавоноидов, дубильных веществ и других полифенольных соединений). В связи с этим нами была использована твердофазная экстракция перед проведением хроматографического анализа (рисунок 4, см. обложку журнала). Использование твердофазной экстракции с использованием в качестве сорбента алюминия оксида позволяет значительно улучшить оценку наличия арбутина в растительном сырье.

Следует отметить, что в бруснике помимо пятна, соответствующего арбутину, обнаруживается другое пятно с более высоким значением R_f , которое также окрашивается в красный цвет после обработки раствором диазобензолсульфо кислоты и предположительно является метиларбутином. Значения R_f анализируемых соединений в различных системах растворителей приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Значения R_f арбутина и метиларбутина в разных системах растворителей

Подвижная фаза	R_f арбутина	R_f метиларбутина (предположительно)
хлороформ – спирт этиловый 96% – вода (26:16:3)	0,31–0,33	0,55–0,57
<i>n</i> -бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2)	0,51–0,53	0,59–0,62
хлороформ – спирт этиловый 96% (6:4)	0,39–0,41	0,52–0,54

Из исследуемых хроматографических систем наибольшей разрешающей способностью по отношению к арбутину и химически родственному соединению обладала подвижная фаза хлороформ – спирт этиловый 96% – вода (26:16:3) (больше 1,0). Оптимальной для разделения этих веществ также являлась система хлороформ – спирт этиловый 96% (6:4) (разрешающая способность примерно равна 0,6).

Данные системы также были исследованы на возможности их применения для оценки подлинности исходных извлечений из побегов черники и листьев толокнянки и брусники. Эти подвижные фазы также позволяют идентифицировать каждый из исследуемых видов, однако они уступали системе *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2) по разрешающей способности, компактности пятен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами исследована возможность применения хроматографического метода анализа для идентификации морфологически схожих видов лекарственного растительного сырья (побеги черники обыкновенной, листья брусники, листья толокнянки). Определен оптимальный состав подвижной фазы, позволяющий осуществить разделение компонентов исходных извлечений из этих видов ЛРС [*n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2)] на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ». По предварительным оценкам, оптимальной экстракционной способностью обладает спирт этиловый 70%.

Для подтверждения наличия арбутина и его производных в сырье нами предло-

жено использовать твердофазную экстракцию (фильтрование через слой алюминия оксида). Оптимальной системой является хлороформ – спирт этиловый 96% (6:4) на хроматографических пластинах «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ».

Полученные результаты могут быть использованы при разработке нормативной документации на изучаемые виды ЛРС. Точность результатов повышается в присутствии вещества-стандарта (арбутина).

SUMMARY

V.A. Kurkin, T.K. Ryazanova
THE COMPARATIVE
CHROMATOGRAPHIC STUDY
OF HERBAL DRUGS OF BEARBERRY,
LINGONBERRY AND BILBERRY

The identification methods of shoots of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.), leaves of bearberry (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.) and lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) by a method of thin layer chromatography (TLC) were proposed. There is offered to use a solvent system of *n*-butanol – glacial acetic acid – water (4:1:2 v/v/v) for qualitative analysis of extracts from the studied species of medicinal plants. Identification of arbutin in herbal material was carried out after the solid-phase extraction on aluminium oxide and separation in the mobile phases: chloroform – ethyl alcohol 96% – water (26:16:3 v/v/v), chloroform – ethyl alcohol 96% (6:4 v/v). Detection of arbutin was carried out after treatment the chromatogram with solution of diazobenzenesulfonic acid in a saturated solution of sodium carbonate solution in the presence of reference standard arbutin.

Keywords: bilberry, *Vaccinium myrtillus* L., lingonberry, *Vaccinium vitis-idaea* L., bearberry, *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng, thin layer chromatography, arbutin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е

изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

2. Государственный реестр лекарственных средств // Министерство здравоохранения Российской Федерации. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> (дата обращения: 12.12.2013).

3. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. – 963 с.

4. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В.А. Куркин. – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.

5. Охрименко, Л.П. Сравнительное исследование толокнянки, брусники и близких к ним видов, произрастающих в Республике Саха (Якутия) / Л.П. Охрименко, Г.И. Калинкина, С.Е. Дмитрук // Химия растительного сырья. – 2005. – № 1 – С. 31–35.

6. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. – М., 1983. – 340 с.

7. Лукша, Е.А. Исследование химического состава нового урологического сбора / Е.А. Лукша, Г.И. Калинкина, Н.Э. Коломиец // Химия растительного сырья. – 2009. – № 4. – С. 143 – 146.

8. Федосеева, Л.М. Анализ арбутина подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia Crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае / Л.М. Федосеева // Химия растительного сырья. – 2003. – № 1. – С. 73–77.

Адрес для корреспонденции:

443099, Российская Федерация,
г. Самара, ул. Чапаевская, 89,
Самарский государственный
медицинский университет,
кафедра фармакогнозии с ботаникой
и основами фитотерапии,
тел.: 8(846) 260-33-59,
E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru,
Куркин В.А.

Поступила 24.01.2014 г.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ

Е.А. Рубан, С.А. Куценко., О.В. Кутовая, И.В. Ковалевская

ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАСТОЙКИ «ВЕНОТОН»

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

В последнее время лекарственные средства на основе лекарственного растительного сырья пользуются повышенным спросом, так как в меньшей степени способны вызвать побочные эффекты в сравнении с синтетическими лекарственными средствами, а при длительном применении не вызывают привыкание. Основным способом производства фитопрепаратов является процесс экстрагирования сырья этиловым спиртом. В связи с тем, что экстрагирование растительного материала, имеющего клеточную структуру, является сложным физико-химическим процессом, на протекание которого оказывает влияние ряд факторов, была проведена его оптимизация методом математического планирования. В ходе исследований сбора, в состав которого входят плоды каштана конского, софоры японской, рябины обыкновенной, овса посевного, листья лещины, трава донника лекарственного и чистотела большого, было установлено, что полнота извлечения растительного материала обеспечивается экстракцией 40 % этанолом, оптимальное время получения вытяжки составляет 24 часа, соотношение сырья к экстрагенту составляет 1:10.

Ключевые слова: экстрагирование, математическое планирование, растительный материал, сложная настойка.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, примерно половина населения планеты пользуется растительными лекарственными средствами (ЛС). Мировой рынок лекарственных средств из растительного сырья оценивается более чем в 60 миллиардов долларов США [1]. В Украине номенклатура синтетических ангиопротекторных ЛС значительно превышает количество фитопрепаратов с данной активностью, а доля лекарственных средств производства Украины, по сравнению с импортными, несравненно мала. Поэтому изучение возможности использования комплекса лекарственного растительного сырья (ЛРС) с синергическим ангиопротекторным фармакологическим действием и создание на его основе новых эффективных лекарственных средств является актуальной задачей фармацевтической отрасли [1,2].

Сборы – древнейшая лекарственная форма, сохраняющая свою актуальность и

в настоящее время. Они содержат комплекс биологически активных веществ, обладающий поливалентным действием. Сборы предназначены для приготовления в домашних условиях настоев или отваров. Непосредственное применение сборов потребителями имеет ряд недостатков: это недостаточный уровень подготовки, нарушение качественных и количественных характеристик способа приготовления, существенные потери биологически активных веществ, нарушение дозировки и т.д. Поэтому с целью достижения полноты терапевтического эффекта целесообразна замена сборов суммарными галеновыми препаратами из лекарственного растительного сырья [3].

Экстрагирование растительного материала, имеющего клеточную структуру, является сложным физико-химическим процессом, на протекание которого оказывает влияние ряд факторов. Таким образом, целью нашей работы стала оптимизация параметров экстрагирования растительного материала для получения сложной настойки «Венотон».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стал сбор, в состав которого входят плоды каштана конского, софоры японской, рябины обыкновенной, овса посевного, листья лещины, трава донника лекарственного и чистотела большого. Качественный состав указанного сбора был определен предварительными фармакологическими исследованиями [4,5].

Продолжительность экстрагирования оказывает значительное влияние на выход экстрактивных веществ. Процесс экстракции, в зависимости от скорости, делится на два периода – быстрый и медленный. Сначала извлекаются наиболее доступные для растворителя биологически активные вещества, расположенные на поверхности частиц растительного материала и непрочные связанные со структурой экстрагируемого материала. Этот процесс определяется скоростью растворения и массоотдачи от поверхности материала. Во втором периоде происходит извлечение экстрактивных веществ из труднодоступных частей ЛРС молекулярной диффузией; интенсивность процесса при этом резко снижается. Основная масса экстрактивных веществ извлекается в течение первого периода, так, за первый час экстракции извлекается около 70% [6,7]. Поэтому получение сложной настойки проводили методом ремацерации. Как известно, на скорость экстрагирования влияет размер частиц сырья. Поэтому данный показатель был зафиксирован на размере частиц 4 мм [8].

Контроль полноты извлечения проводили с помощью качественных реакций на тритерпеновые сапонины (эсцин) и флавоноиды. Группу флавоноидов идентифицировали с помощью порошка цинка и раствора кислоты хлористоводородной Р. Наличие биологически активных соединений этой группы подтверждали появлением розовой окраски исследуемого раствора. Образование стойкой пены при добавлении к ЛС воды с последующим встряхиванием свидетельствовало о содержании в лекарственном средстве сапонинов.

Количественное определение суммы флавоноидов в ЛС определяли согласно требованиям Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) 2.2.25 методом УФ-спектрофотометрии с использованием реакции комплексообразования с алюминия

хлоридом [9]. Измерения проводили в УФ-области при длине волны 403 нм. Параллельно определяли оптическую плотность комплекса рутин с алюминия хлоридом в кислой среде. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X%) вычисляли по формуле (1):

$$X = \frac{A \cdot 50}{200}, \quad (1)$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора;

50 – исследуемый объем;

200 – удельный показатель поглощения комплекса рутин с алюминия хлоридом Р в 96 % спирте по длине волны 403 нм.

Количественное определение эсцина проводили методом тонкослойной хроматографии согласно требованиям ГФУ 2.2.27 по размеру и интенсивности поглощения пятна на уровне пятна раствора стандарта эсцина (не менее 2,5 мг/мл).

Концентрацию спирта и относительную плотность определяли пикнометрическим методом, показателя преломления – рефрактометрическим методом, содержание сухого остатка – согласно методикам ГФУ. Для определения уровня рН исследуемых образцов использовали потенциометрический метод [9,10].

План эксперимента строили с использованием планирования эксперимента методом наименьших квадратов (МНК) в программе MathCad [11].

Переменными факторами, влияющими на выход экстрактивных и действующих веществ, явились: соотношение сырья и экстрагента, концентрация водно-этанольной смеси, время экстрагирования. Для поиска оптимальных значений факторов был проведен трехфакторный эксперимент.

Исходя из теоретических основ экстрагирования в равновесных условиях [6], ввели следующие ограничения на уровни переменных факторов: содержание этанола $40 \leq x_1 \leq 70$, время экстрагирования $24 \leq x_2 \leq 48$, соотношение сырья и экстрагента от $0,1 \leq x_3 \leq 0,2$. Пределы концентрации этилового спирта для экстрагирования были выбраны согласно стандартам экстракции флавоноидов, указанным в Государственной фармакопее СССР [10]. Параметром оптимизации служило истощение сырья по экстрактивным веществам. Перечень факторов и их уровней приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Факторы и их уровни, которые изучались при поиске оптимальных условий экстрагирования

Факторы	Интервал варьирования	Уровни факторов		
		Нижний (-)	Основной(0)	Верхний (+)
Концентрация этанола, % (x1)	15	40	55	70
Время экстрагирования, час (x2)	12	24	36	48
Соотношение (x3)	0,05	0,1	0,15	0,2

При наличии значительного числа экспериментальных точек сглаживание с помощью многочленной интерполяции не имело смысла не только из-за неустойчивости (локальных выбросов) интерполирующей функции, но и из-за сильного колебания заданных точек. Способы локальной интерполяции с помощью сплайнов также не дали приемлемых результатов. Поэтому дискретно заданную функцию сглаживали в среднем многочленом, коэффициенты которого находили с помощью минимизации отклонения сглаживающей функции от заданных точек в среднеинтегральном смысле.

Для трехфакторного эксперимента рациональным явилось вычисление линей-

ных эффектов и эффектов взаимодействия. В этом случае строили модель, вычисляемую по формуле (2):

$$y(x_1, x_2, x_3) = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_1x_2 + a_5x_1x_3 + a_6x_2x_3 + a_7x_1x_2x_3, \quad (2)$$

где $a_0 - a_7$ – регрессионные коэффициенты;

x_1 – переменные.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для расчета коэффициентов математической модели использовали результаты эксперимента, которые приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Матрица полного факторного эксперимента 2^3

	x1	x2	x3	y1	y2	y3	y4	y5	y6	y7
1	+/70	+/48	+/0,2	0,049	1,46	1,3642	6,42	0,8436	68,42	1,02
2	-/40	+/48	+/0,2	0,092	2,10	1,3576	6,01	0,9602	38,42	2,35
3	+/70	-/24	+/0,2	0,049	1,38	1,3639	6,26	0,8434	69,88	0,93
4	-/40	-/24	+/0,2	0,092	2,11	1,3576	6,04	0,9576	39,08	2,35
5	+/70	+/48	-/0,1	0,054	1,7	1,3642	6,04	0,8447	68,42	2,40
6	+/70	-/24	-/0,1	0,054	2,0	1,3646	6,02	0,8440	69,88	2,43
7	-/40	+/48	-/0,1	0,11	2,1	1,3576	6,01	0,9602	38,42	3,64
8	-/40	-/24	-/0,1	0,11	2,11	1,3576	6,04	0,9576	39,08	3,65

Примечания: y_1 – содержание флавоноидов, %; y_2 – сухой остаток; y_3 – показатель преломления; y_4 – pH; y_5 – относительная плотность; y_6 – содержание этанола; y_7 – содержание эсцина, %.

Для выражения средней величины одного признака как функции другого были получены уравнения регрессии, приведенные в таблице 3.

Согласно полученным уравнениям, можно сделать вывод, что взаимодействие между факторами отсутствует. Проверка адекватности полученных уравнений показала пригодность полученной модели. Величина ошибки была вычислена с помощью критерия Фишера.

Поведение исследуемой системы с математической точки зрения можно оценить четырехмерной вектор – функцией $R(x_1, x_2, x_3) = f(y_1(x_1, x_2, x_3), y_2(x_1, x_2, x_3), y_3(x_1, x_2, x_3), y_4(x_1, x_2,$

$x_3), y_5(x_1, x_2, x_3), y_6(x_1, x_2, x_3), y_7(x_1, x_2, x_3)$. Система полученных уравнений вместе с наложенными ограничениями имеет область решений, в которой необходимо выбрать оптимальные значения. Эти значения должны приближать физико-химические показатели в желаемых параметрах. Согласно нашим предположениям, решение будет найдено из условия, что сумма квадратов отклонения каждого показателя от заданного значения будет минимальной.

При минимизации вектор-функции были получены оптимальные значения изученных показателей: $x_1=40,946$; $x_2=24,893$; $x_3=0,112$.

Таблица 3 – Уравнения регрессии

Показатель	$Y = f(x_1, x_2, x_3)$
y1	$y_1(x_1, x_2, x_3) = 0,184 - 0,00165 \cdot x_1 - 0,000000001499 \cdot x_2 - 0,115 \cdot x_3,$
y2	$y_2(x_1, x_2, x_3) = 3,144 - 0,016 \cdot x_1 - 0,00025 \cdot x_2 - 2,15 \cdot x_3,$
y3	$y_3(x_1, x_2, x_3) = 1,349 - 0,0002208 \cdot x_1 - 0,000001042 \cdot x_2 - 0,00175 \cdot x_3,$
y4	$y_4(x_1, x_2, x_3) = 5,534 - 0,005333 \cdot x_1 - 0,00125 \cdot x_2 - 1,55 \cdot x_3,$
y5	$y_5(x_1, x_2, x_3) = 1,111 - 0,003832 \cdot x_1 - 0,00006354 \cdot x_2 - 0,00425 \cdot x_3,$
y6	$y_6(x_1, x_2, x_3) = -0,027 + 1,009 \cdot x_1 - 0,039 \cdot x_2 - 1,25 \cdot x_3,$
y7	$y_7(x_1, x_2, x_3) = 6,767 - 0,043 \cdot x_1 - 0,0005208 \cdot x_2 - 13,675 \cdot x_3,$

Таким образом, по результатам проведенных исследований установлено, что для исследуемого сбора полнота истощения растительного материала обеспечивается экстракцией 40 % этиловым спиртом; оптимальное время получения вытяжки составляет 24 часа; показатели содержания биологически активных веществ и сухого остатка имеют максимальные значения в соотношении сырья к экстрагенту 1:10 по сравнению с образцами, имеющими другие количественные характеристики.

ВЫВОДЫ

1. Подобран оптимальный экстрагент – 40% этиловый спирт, извлекающий максимальное количество экстрактивных и биологически активных веществ сбора. Выход сухого остатка – 2,11 %, флавоноидов – 0,11%, эсцина – 3,65%.

2. Найдены оптимальные условия процесса экстракции сбора: соотношение сырья и экстрагента (1:10), продолжительность экстракции (24 часа).

3. Получено линейное уравнение экстракционного процесса, показывающее количественное влияние каждого фактора на выход экстрактивных веществ в процессе экстракции сбора, дающее возможность управлять этим процессом.

SUMMARY

O.A. Ruban, S.A. Kutsenko,
O.V. Kutovaya, I.V. Kovalevskaya
PARAMETER OPTIMIZATION
EXTRACTION OF MEDICINAL PLANTS
TO PRODUCE TINCTURE "VENOTON"

In recent years products based on medicinal plants are in high demand, as less able to cause side effects in comparison with synthetic drugs, and prolonged course of therapy provide a more efficient and stable result and not addictive. The main mode of production of

herbal remedies is the process of extraction of raw ethyl alcohol. Due to the fact that extracting the plant material having a cellular structure is complex physico-chemical process by which the flow affects a number of factors, it has been carried out by mathematical optimization scheduling. Studies of species, including fruits of horse - chestnut, sofora japanese, rowanberry common, oats sowing, leaves of the hazel, herb of yellow melilot and greater celandine, have found that the completeness of depletion of plant material provided by extraction of 40% ethanol to obtain the optimum extraction time is 24 hours, the ratio of raw material to extractant is 1:10.

Keywords: extraction, mathematical planning, plant material, complex tincture.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лоскутова, Е. Тенденции и структура спроса на препараты из лекарственных растений / Е. Лоскутова, О. Базаркина // Ремедиум. – 2000. – №. 4. – с. 38–41.

2. Алексеева, Е. Фитопрепараты в современной рациональной фармакотерапии / Е. Алексеева // Рос. аптеки. – 2002. – № 2. – С. 23–27.

3. Минина, С. А. Химия и технология фитопрепаратов / С. А. Минина, И. Е. Каухова // М.: Гэотар-Медиа, 2009. – 560 с.

4. Куценко, С.А. Розробка підходів з вибору складу препарату на основі лікарської рослинної сировини для лікування варикозної хвороби вен / С.А. Куценко, О.А. Рубан, І.В. Ковалевська // Фітотерапія. – 2011. – №2. – С. 88–91.

5. Куценко, С.А. Перспективы создания новых лекарственных форм для комплексного лечения хронической венозной недостаточности / С.А. Куценко, Е.А. Рубан, И.В. Ковалевская // Материалы науч.-практ. конф. «Интеграция образования, науки и производства в фармации, посвященная году гармонично развитого поко-

ления» (19–20 октября 2010 г.). – Ташкент: ТФИ, 2010. – С. 268.

6. Аксельруд, Г.А. Экстрагирование (система твердое тело-жидкость) / Г.А. Аксельруд, В.М. Лысянский // Л.: Химия, 1974. – 256 с.

7. Пономарев, В.Д. Экстрагирование растительного сырья / В.Д. Пономарев // М.: Медицина. – 1976. – 202 с.

8. Визначення оптимальних розмірів частинок при сумісному екстрагуванні різних видів рослинної сировини, що входить до складу настою «Венотон» / С.А. Куценко [та інш.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014. – № 1. – С. 31–34.

9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.

10. Государственная фармакопея СССР:

в 2 т. Т. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. 11-е изд., доп. М., 1989. – 400 с.

11. Беликов, В.Г. Применение математического планирования эксперимента и обработка результатов эксперимента в фармации / В.Г. Беликов, В.Д. Пономарев, Н.И. Коковкин-Щербак. – М., 1973. – 232 с.

Адрес для корреспонденции:

61146, Украина,
г. Харьков, ул. Блюхера, 4,
Национальный фармацевтический университет,
кафедра заводской
технологии лекарств,
тел. (80572)67-88-52,
e-mail - inga.kovalevskaya@gmail.ru,
Рубан Е.А.

Поступила 14.02.2014 г.

В.А. Шевченко², В.С. Бондарь¹, С.Н. Ролик², А.И. Квитчатая²

РАЗРАБОТКА СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ L-ОРНИТИНА L-АСПАРТАТА

¹Национальный фармацевтический университет,

²Институт повышения квалификации специалистов фармации, г. Харьков,
Украина

Статья посвящена разработке состава нового лекарственного средства для питья на основе L-орнитина L-аспартата в полиэтиленовых ампулах, которое применяется при острой печеночной недостаточности. В статье представлены экспериментальные данные по разработке качественного и количественного состава компонентов, обеспечивающих стабильность лекарственного средства, а также освещены фармако-технологические показатели качества раствора: описание, прозрачность, цветность, органолептические свойства, потеря массы контейнера при хранении. Представлены результаты исследования по подбору оптимального рН орального раствора и вспомогательных веществ, входящих в состав лекарственного средства для питья.

Ключевые слова: лекарственное средство, L-орнитин L-аспарат, оральный раствор, состав, степень диссоциации, коррективы вкуса, полиэтиленовые ампулы, рН раствора.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с ухудшением экологического состояния окружающей среды и качества пищевых продуктов, снижением уровня жизни людей, увеличением потребления алкоголя, широким распространением ви-

русных инфекций острая печеночная недостаточность по данным ВОЗ занимает 3-е место в мире после сердечно-сосудистой и онкологической патологий. Особенности течения заболеваний печени являются высокий уровень летальности в остром периоде болезни (90%), значитель-

ная частота хронизации процесса (цирроз печени или гепатоцеллюлярная карцинома) с развитием инвалидности, ухудшение качества жизни, сокращение ее продолжительности, низкая выживаемость (17 на 100 тыс.) [1,2].

Одними из наиболее эффективных лекарственных средств (ЛС), применяемых при острой печеночной недостаточности, являются средства на основе L-орнитина L-аспартата, обладающего гепатопротекторным действием. L-орнитин L-аспартат, с одной стороны, стимулирует замедленный у циррозных пациентов синтез мочевины, повышая тем самым способность организма к детоксикации, с другой стороны – повышает способность к связыванию аммиака за счет синтеза глутамина в мускулатуре. Кроме того, преобразование орально принимаемого аспартата в аланин и оксалацетат ведет к увеличению концентрации этих веществ. Это, в свою очередь, предотвращает снижение концентрации клеточного АТФ в пораженных гепатоцитах и снижает плазменную концентрацию трансаминаз и других печеночных энзимов [3,4].

L-орнитин L-аспартат представляет собой соль двух аминокислот, одна из которых орнитин, обладающая основными свойствами, и аспартовая кислота, которая в образовании соли играет роль кислотного реагента [5].

В настоящее время лекарственные средства на основе L-орнитина L-аспартата выпускаются в виде концентрата для инъекций и гранул для орального применения. Указанные лекарственные формы вызывают определенные сложности при применении лекарственных средств [6,7].

Таким образом, разработка состава и технологии ЛС в виде раствора для питья в ампуле из полиэтилена, представляющей собой разовую дозу ЛС, в удобной для потребителя упаковке, является актуальной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований была субстанция L-орнитин L-аспартат фирмы «Kyowa Hakko Bio Co., Ltd», Япония, вспомогательные вещества и ампулы из полиэтилена марки Purell PE 3020D с относительной плотностью 0,926 г/см³, разрешенного Минздравом Украины к использованию в фармацевтической промышленности для изготовления контейнеров для

жидких лекарственных средств [8,9].

В ходе исследований проводили качественный и количественный контроль образцов приготовленных растворов на основе L-орнитина L-аспартата в полиэтиленовых ампулах. Исследовали фармако-технологические показатели качества раствора: описание, прозрачность, цветность, органолептические свойства, рН, потеря массы контейнера при хранении.

Для маскировки вкуса, характерного для аминокислот, были использованы подсластители: сахароза, глюкоза, маннит, сорбитол, натрия сахаринат.

Оценку корректирующих свойств подсластителей в разрабатываемом ЛС на основе L-орнитина L-аспартата проводили методом установления числовых индексов (по пятибалльной системе), основанном на показателях эмоционального восприятия вкуса и степени интенсивности вкусовых ощущений (вкусовая панель) (по А.И. Тенцовой). При этом оценивали вкус по пятибалльной системе с помощью таких терминов: очень приятный – 5, приятный – 4, неплохой – 3, плохой – 2, очень плохой – 1. Оценку ощущений заносили в таблицу и выводили числовой индекс вкуса как среднеарифметическое значение всех показателей.

Параллельно определяли вкусовые характеристики полученных растворов путем составления вкусовых карт и формул вкуса (по И.А. Егорову). Чувство вкуса условно обозначалось буквами: О – сладкий, Г – горький, С – соленый, К – кислый и цифровыми индексами: 1 – не сладкий, не горький, не соленый, не кислый; 2 – слабосладкий, слабогорький, слабосоленый, слабокислый; 3 – сладкий, горький, соленый, кислый; 4 – очень сладкий, очень горький, очень соленый, очень кислый [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения дозы в ЛС руководствовались дозировкой ЛС «ГЕПА-МЕРЦ», производства Мерц Фарма ГмбХ & Ко, Германия в виде гранул для орального применения [6,7]. На основании чего концентрация L-орнитина L-аспартата в ампуле вместимостью 10 мл составила 30 мг/мл.

Одним из основных физических параметров при создании оральной лекарственной формы на основе L-орнитина L-аспартата является оптимальное значение рН среды, при котором сохраняется стабильность ак-

тивного ингредиента. На основании этого, для установления оптимальных пределов рН раствора L-орнитина L-аспартата, при которых диссоциация соли проходит полностью и достигается максимальная растворимость субстанции, нами использован расчет степени диссоциации соли L-орнитина L-аспартата в зависимости от рН среды, представленный в таблице 1.

Степень диссоциации (СД) соли L-орнитина L-аспартата рассчитывали по формуле (1):

$$\text{СД (\%)} = 100 / (1 + 10^{\text{pKa} - \text{pH}}) \quad (1)$$

При расчете использовали показатель кислотной ионизации аспартовой кислоты (рКа), равный 4,0 [11].

Таблица 1 – Зависимость степени диссоциации соли L-орнитина-L-аспартата от рН среды

рН раствора	$100 / (1 + 10^{\text{pKa} - \text{pH}})$	Степень диссоциации, %
4,5	$100 / (1 + 10^{4,0 - 4,5})$	75,988
5,0	$100 / (1 + 10^{4,0 - 5,0})$	90,909
5,5	$100 / (1 + 10^{4,0 - 5,5})$	96,937
6,0	$100 / (1 + 10^{4,0 - 6,0})$	99,009
6,5	$100 / (1 + 10^{4,0 - 6,5})$	99,685
7,0	$100 / (1 + 10^{4,0 - 7,0})$	99,900
7,5	$100 / (1 + 10^{4,0 - 7,5})$	99,968

Проведенные расчеты показали, что максимальное значение степени диссоциации L-орнитина L-аспартата (более 99%) достигается при значениях рН среды от 6,0 и выше.

Таким образом, соль L-орнитина L-аспартата создает практически нейтральные пределы рН, что свидетельствует о стабильности ее водных растворов и

отсутствии необходимости введения стабилизаторов при разработке состава. Поэтому в задачи наших дальнейших исследований входило улучшение органолептических характеристик ЛС с приемлемым при употреблении вкусом.

Результаты исследований по выбору корригентов вкуса представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние количеств корригирующих веществ на вкусовые ощущения раствора L-орнитина L-аспартата

Вспомогательные вещества	Количество, г/100 мл	Оценка вкуса			
		по А.И. Тенцовой		по И.А. Егорову	
		Ощущение вкуса (балл)	Ощущение основного вкуса (балл)	Формула вкуса	Общий вкус
Маннит	2,0	1,0	1,2	О1Г2	не сладкий, слабогорький
	3,0	1,3	1,5	О1Г2	не сладкий слабогорький
	4,0	2,0	2,0	О2Г2	слабосладкий, слабогорький
Натрия сахаринат	0,01	2,5	2,8	О2Г2	слабосладкий, слабогорький
	0,05	4,2	4,3	О3Г2	сладкий, слабогорький
	0,1	2,3	2,5	О4Г2	сильносладкий, слабогорький
Кислота лимонная	0,05	4,2	4,3	О3Г2	сладкий, слабогорький
	0,1	4,5	4,8	О3К2	сладкий, слабокислый
	0,15	3,2	3,3	О3К3	сладкий, кислый

В результате проведенных исследований введение подсластителей, таких как сахароза, глюкоза, сорбит, позволило получить приемлемые вкусовые ощущения при их концентрациях около 30% и выше. Однако, при концентрации L-орнитина L-аспартата 300 мг/мл введение вышеуказанных корригентов в необходимых количествах может значительно затруднить технологический процесс приготовления ЛС, а также создать риск выпадения осадка в насыщенном растворе.

Поэтому с учетом полученных данных (таблица 2) нами в качестве подсластителя выбран натрия сахаринат. Для маскировки специфического вкуса, присущего аминокислотам, в состав раствора введен маннит. Как показали исследования стабильности полученных образцов, присутствие маннита в растворе позволило предотвратить изменение его цветности, что исключило необходимость применения красителей. Для маскировки горьковатого привкуса раствора в состав ЛС введена кислота лимонная.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан состав нового лекарственного средства для питья на основе L-орнитина L-аспартата. Качественный и количественный состав компонентов обеспечивает стабильность целевого продукта при его создании, хранении и применении.

2. Представлены результаты исследования по выбору оптимального pH орального раствора (6,0-7,0), при котором достигается максимальное значение степени диссоциации действующего вещества L-орнитина L-аспартата (более 99%).

3. Проведен выбор вспомогательных веществ корригентов вкуса, позволяющий оптимизировать органолептические характеристики лекарственного средства для перорального применения.

SUMMARY

V.A. Shevchenko, V.S. Bondar,
S.N. Rolik, A.I. Kvitchataya
DEVELOPMENT OF COMPOSITION
OF MEDICAMENT FOR ORAL
ADMINISTRATION
ON THE BASIS OF L-ORNITHINE
L-ASPARTATE

The article is devoted to the development of a new drug for drinking on the basis of L-ornithine L-aspartate in plastic vials, which is used in acute liver failure. The article presents experimental data on the development of qualitative and quantitative composition of components that provide the stability of the drug, as well as highlight the pharmaco-technological indicators of the solution quality, such as a description, transparency, color, organoleptic properties, mass loss of the container during storage. The results of research on the selection of optimal oral solution pH and excipients included in the medicament for drinking were presented.

Keywords: drug, L-ornithine L-aspartate, oral solution, composition, degree of dissociation, flavoring agents, plastic vials, solution pH.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шипулин, В.П. Токсические гепатиты: как повысить эффективность лечения / В.П. Шипулин, В.В. Чернявский // Новости медицины и фармации. – 2010. – № 348. – С. 25–29.

2. Бабак, О.Я. Современные возможности коррекции печеночной энцефалопатии у пациентов с циррозом печени / О.Я. Бабак, Е.В. Колесникова, Т.Е. Козырев // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 4 (54). – С. 38–43.

3. Ткач, С.М. Изучение эффективности L-орнитина L-аспартата (Гепамерц) в профилактике послеоперационных осложнений у больных хроническими заболеваниями печени / С.М. Ткач // ГЕПАТОЛОГИЯ. – 2011. – С. 60–61.

4. Грюнграйфф, К. Эффективность гранул L-орнитина L-аспартата при лечении хронических заболеваний печени / К. Грюнграйфф, Й. Ламберт-Бауманн // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2009. – № 5. – С. 26–28.

5. Пат. 20090082594 США, АС 07C22926F1. Crystals of l-ornithine and process for producing the same / Hideki Murata Ikuhiro Nakatani Mariko Shitashige Kenji Tajima (Япония). – заявл. 11/14/2005, опублик. 03/26/2009.

6. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. – М.: АстраФармСервис, 2002. – 1488 с.

7. Компендиум. Лекарственные препараты. – К: Морион, – 2010. – 1388 с.

8. Rowe, R.C. Handbook of Phar-

maceutical Excipients / R.C. Rowe, P.J. Sheskey, S.C. Owen // Edit by R.C. Rowe, P.J. Sheskey, S.C. Owen – London – Chicago, 2006. – 888 p.

9. Руководства 42-3.6:2004. Руководства по качеству. Лекарственные средства. Вспомогательные вещества. – Киев, МЗ Украины, 2004. – 11 с.

10. Технологія ліків промислового виробництва: Підруч. для студ. вищ. фарм. навч. закл. і фарм. ф-тів вищ. мед. навч. закл. / В.І. Чуєшов [та інш.]; за ред. В.І. Чуєшова – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 720 с.

11. Структурные характеристики связующего сайта глутамата в рекомбинатных приемных устройствах N-Метил-D-

аспартата NR1/NR2A, обусловленных местно-направленным мутагенезом и молекулярным моделированием. / Chen Philipp E. [et al]. // Молекулярное лекарствоведение. – 2005. – Т. 67. – С. 1470–1484.

Адрес для корреспонденции:

61001, Украина,
г. Харьков, пл. Восстания, 17,
Институт повышения квалификации
специалистов фармації,
Национальный фармацевтический университет,
кафедра общей фармації
и безопасности лекарств,
тел. раб.: (8-057) 732-27-98.
Шевченко В.А.

Поступила 13.03.2014 г.

В.И. Гриценко

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭМУЛЬГАТОРОВ НА ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУППОЗИТОРИЕВ С ТАМСУЛОЗИНА ГИДРОХЛОРИДОМ

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

Авторами статьи изучено влияние вида и концентрации эмульгаторов на фармако-технологические свойства суппозиториев с тамсулозина гидрохлоридом для лечения гиперплазии предстательной железы. Объектами исследования стали образцы суппозиториев с тамсулозина гидрохлоридом, изготовленные методом выливания на основе твердого жира с добавлением эмульгаторов Lanette SX, Cremophor RH-40, Sympatens W/230. Проведены исследования влияния природы и концентрации эмульгаторов на распадаемость и устойчивость суппозиториев к разрушению.

Результаты проведенных исследований показали, что введение в суппозиторную основу эмульгаторов позитивно влияет на изменение фармако-технологических свойств суппозиториев, и позволили выбрать эмульгатор Lanette SX в концентрации 5% для разработанного состава суппозиториев. Увеличение концентрации эмульгатора свыше 5% существенно не влияет на изменение фармако-технологических показателей.

Ключевые слова: суппозитории, поверхностно-активные вещества, фармако-технологические свойства.

ВВЕДЕНИЕ

Гиперплазия предстательной железы является одним из самых распространенных урологических заболеваний мужчин пожилого возраста. Средний показатель распространенности в возрастной группе 40-50 лет – около 50%, в группе 50-60 лет – около 60%, в группе 60-70 лет – около 70%, а мужчины старше 70 лет практиче-

ски в 80-85% страдают данным заболеванием в той или иной степени выраженности клинической симптоматики [1].

К причинам развития гиперплазии предстательной железы на сегодня относят возрастные изменения в эндокринной системе мужчин, связанные с изменением уровня андрогенов. Чаще всего аденома простаты развивается в центральной части железы, захватывая и её боковые доли;

ее рост связан с аденоматозным разрастанием парауретральных желез, что ведет к смещению собственной ткани железы наружу и образованию капсулы аденомы. В результате, многие мужчины становятся перед выбором вида лечения.

В настоящее время применяются различные современные методы лечения гиперплазии простаты, которые назначаются в зависимости от стадии заболевания, степени нарушения мочеиспускания, размеров простаты, а также имеющих осложнений и сопутствующих заболеваний.

В течение длительного времени единственным методом лечения был оперативный. С появлением новых лекарственных средств расширились возможности консервативной терапии. За последние годы появилось множество средств, как отечественных, так и зарубежных, для лечения гиперплазии предстательной железы, которые способствуют нормализации мочеиспускания и уменьшению объема простаты [2].

Основу современных схем фармакологической коррекции гиперплазии предстательной железы составляют простапротекторы – лекарственные средства, комплексно воздействующие на предстательную железу.

Существование того факта, что гладкая мускулатура предстательной железы содержит α_{1A} -адренорецепторы, ответственные за динамический компонент нарушения оттока мочи у пациентов с гиперплазией предстательной железы, послужило основанием для применения α_1 -адреноблокаторов с целью лечения заболевания. α -адреноблокаторы – препараты первого ряда лечения, которые влияют на α -рецепторы и уменьшают или полностью ликвидируют мышечный тонус простатической части уретры и шейки мочевого пузыря [3].

Тамсулозина гидрохлорид – избирательный и конкурентный блокатор постсинаптических α_{1A} -адренорецепторов. Селективность тамсулозина к α_{1A} -адренорецепторам, которые расположены в мочевом пузыре, в 20 раз превышает его способность взаимодействовать с α_{1B} -адренорецепторами, которые находятся в гладких мышцах сосудов, благодаря чему тамсулозин не влияет на артериальное давление пациентов [4].

На сегодня наиболее перспективной формой для лечения гиперплазии предстательной железы являются суппозитории.

Лекарственные средства в форме суппозитория имеют большую биодоступность, их анатомическая близость к органу-мишени обеспечивает терапевтическое действие непосредственно в простате. На фармацевтическом рынке отсутствуют лекарственные средства с α -адреноблокаторами в виде суппозитория, поэтому разработка их состава и технологии является актуальным и перспективным направлением современной фармацевтической науки.

Создание эффективных лекарственных средств требует использования не только действующих, но и большого количества вспомогательных веществ с различными свойствами. Широкое применение в фармацевтической технологии нашла группа веществ, которые имеют поверхностно-активные свойства: катионные, анионные и неионогенные, что обусловлено свойствами их молекул – дифильностью, величиной гидрофильно-липофильного баланса и поверхностной активностью.

Поверхностно-активные вещества представлены многочисленной группой соединений, молекулы которых имеют липофильные и гидрофильные группы и способны адсорбироваться на поверхности раздела фаз, что приводит к изменению молекулярной природы поверхности и снижению межфазной поверхностной энергии. Поверхностно-активные вещества изменяют физико-химические свойства лекарственных средств, влияют на их терапевтическую эффективность и высвобождение действующих веществ [5,6].

Целью нашей работы стало исследование влияния эмульгаторов на физико-химические свойства суппозитория с тамсулозина гидрохлоридом для лечения гиперплазии предстательной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования стали образцы суппозитория с тамсулозина гидрохлоридом массой 1,6 г, изготовленные на основе твердого жира методом выливания. С целью оптимизации состава суппозитория в основу вводили эмульгаторы в количестве 5%, которые имеют различную химическую природу и значение гидрофильно-липофильного баланса: Lanette SX (сплав жирных спиртов (C_{16} - C_{18}) и сульфатов жирных спиртов, ГЛБ 10,3), Stomphor RH-40 (оксиэтилированное ги-

дрогенизированное касторовое масло, ГЛБ 14-16), Sympatens W/230 (сорбитан изостеарат, ГЛБ 4,5).

Проводили исследования влияния вида и концентрации эмульгаторов на фармако-технологические показатели суппозиторий: распадаемость и устойчивость к разрушению [7].

Для проведения исследования суппозиторий на распадаемость (ГФУ 1-е изд. п. 2.9.2.) использовали прибор PTS 3E фирмы Pharma Test. Прибор предназначен для ручного контроля времени распадаемости суппозиторий и соответствует рекомендациям и стандартам Европейской Фармакопеи. Прибор состоит из корзинки с тремя контейнерами для образцов, которая помещается в 12-литровую водяную баню, заполненную водой (температура воды 37°C). С помощью насоса вода циркулирует в системе со скоростью 1,4 л/м. Контейнер представляет собой два перфорированных диска из нержавеющей металла, в каждом диске – 39 отверстий диаметром 4 мм.

Для проведения исследований программируют общее время теста (30 минут) и цикл вращения (обычно 10 минут). В течение заданного времени вращение корзинки осуществляется на 180° с установленной частотой. Проводят испытания трех суппозиторий. После окончания времени исследуют образцы. Лекарственное средство выдерживает испытания, если все образцы распались.

Испытания суппозиторий на устойчивость к разрушению (ГФУ 1.1, п. 2.9.24.) проводили путем определения массы, необходимой для их разрушения методом раздавливания (испытывают суппозитории, изготовленные на жировой основе).

Прибор состоит из термостатирующей камеры с держателем для суппозиторий и двух противоположно расположенных зажимов. Прибор устанавливается вертикально, термостатирующую камеру нагревают до температуры 25°C. Испытуемое лекарственное средство выдерживают при необходимой для испытания температуре не менее 24 ч. Суппозиторий помещают вертикально между зажимами на держатель заостренным концом вверх. Устанавливают верхний блок и закрывают камеру. Через 1 минуту устанавливают первый диск массой 200 г. Выдерживают 1 минуту и устанавливают следующий диск. Операцию повторяют до полного разрушения суппозитория. Вычисляют массу, необходимую для разрушения суппозитория, суммируя массу всех дисков. Испытания проводят для 10 суппозиторий, полностью удаляя остатки образцов перед каждым определением.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 приведена диаграмма зависимости времени распадаемости суппозиторий от вида эмульгатора, входящего в их состав.

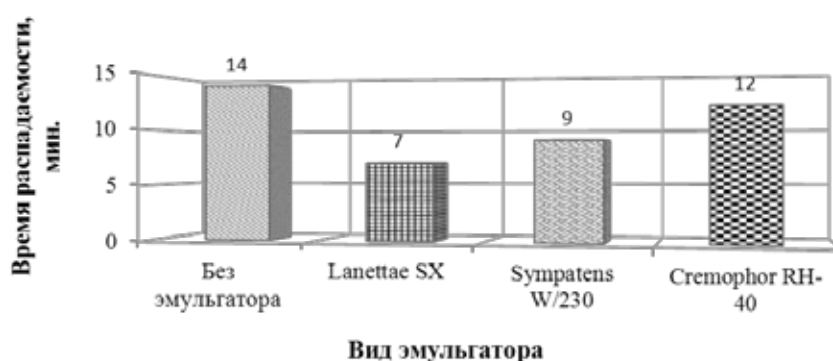


Рисунок 1 – Зависимость времени распадаемости суппозиторий от вида эмульгатора

Как видно из рисунка, наименьшее время (7 мин) потребовалось для распадаемости суппозиторий, содержащих в своем составе эмульгатор Lanette SX. Суппозитории, в состав которых входят эмульгаторы Sympatens W/230 и

Cremophor RH-40, распались за 9 и 12 минут, соответственно. Наиболее длительное время потребовалось для распадаемости суппозиторий с тамсулозином гидрохлоридом, изготовленных без эмульгатора (14 мин).

Результаты проведенных исследований показали, что наилучшие показатели распадаемости имеют суппозитории, содержащие в своем составе эмульгатор Lanette SX. Следующим этапом наших исследований стал выбор концентрации эмульгатора.

На рисунке 2 приведен график зависимости времени распадаемости суппозитория от концентрации эмульгатора Lanette SX. Как видно из рисунка, с увеличением

концентрации эмульгатора уменьшается время распадаемости суппозитория. Так, анализируя динамику изменения времени распадаемости, наиболее оптимальная концентрация эмульгатора Lanette SX составляет 5% (время распадаемости суппозитория – 7 минут). Дальнейшее увеличение концентрации эмульгатора до 10% не приводит к существенному изменению времени распадаемости суппозитория.

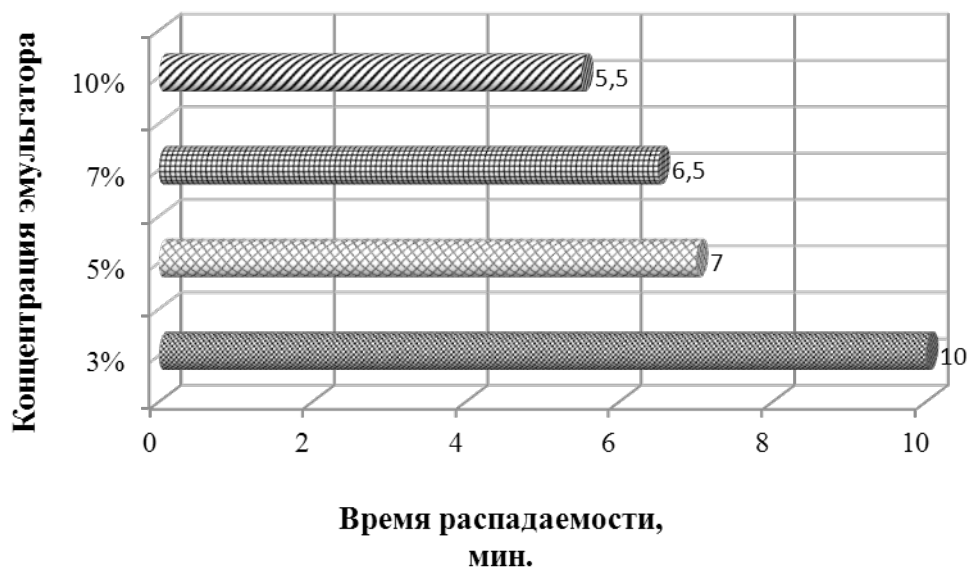


Рисунок 2 – Зависимость времени распадаемости суппозитория от концентрации эмульгатора Lanette SX

Следующим этапом наших исследований стало изучение влияния вида и концентрации эмульгаторов на устойчивость суппозитория к разрушению. На рисунке 3 приведен график влияния вида эмульгатора, входящего в состав исследуемых суппозитория, на их устойчивость.

Как видно из рисунка, наиболее устойчивыми являются суппозитории, в состав которых входит эмульгатор Lanette SX (их устойчивость к разрушению составляет 3,00 кг). Суппозитории, содержащие в своем составе другие эмульгаторы, показали более низкие результаты устойчивости.

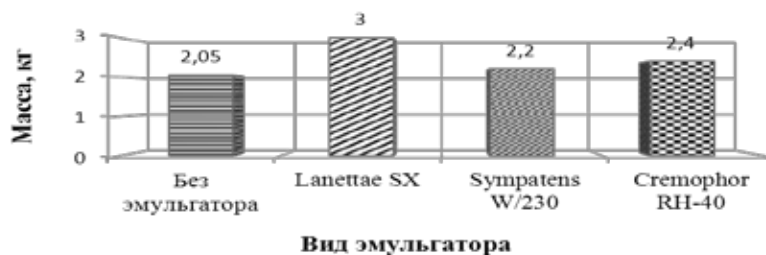


Рисунок 3 – Влияние вида эмульгатора на устойчивость суппозитория к разрушению

На рисунке 4 показано влияние концентрации эмульгатора Lanette SX на устойчивость суппозитория к разрушению.

Проследивая динамику изменения результатов, можно сделать вывод, что наиболее оптимальной является концентрация

эмульгатора 5%. Дальнейшее увеличение концентрации не существенно влияет на повышение устойчивости суппозитория

(при добавлении эмульгатора в количестве 7% устойчивость к разрушению составляет 3,10 кг, а в количестве 10% – 3,25 кг).

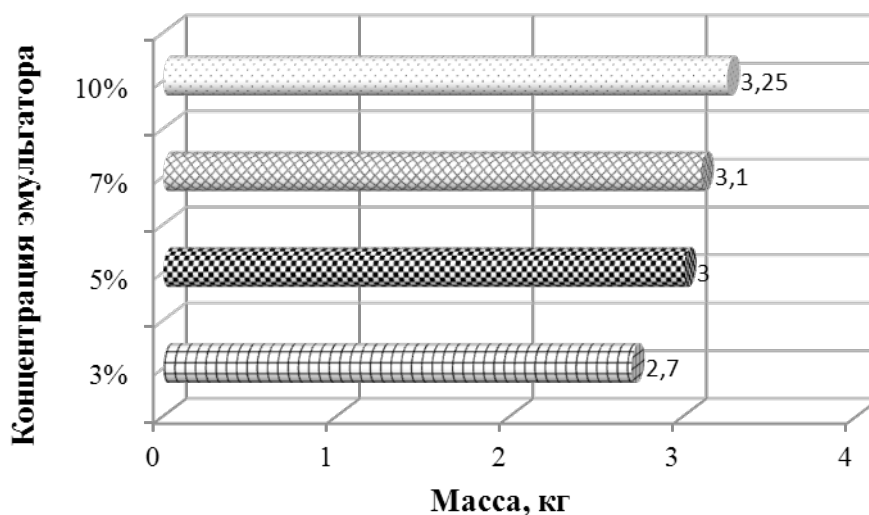


Рисунок 4 – Влияние концентрации эмульгатора Lanette SX на стойкость суппозитория к разрушению

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что введение в суппозиторную основу эмульгаторов позитивно отображается на изменении фармако-технологических показателей суппозитория. Проведенные исследования влияния вида и концентрации эмульгаторов на распадаемость и устойчивость к разрушению позволили выбрать эмульгатор Lanette SX в оптимальной концентрации 5% для разработанного состава суппозитория с тамсулозином гидрохлоридом для лечения гиперплазии предстательной железы.

SUMMARY

V.I. Gritsenko STUDY OF THE INFLUENCE OF EMULSIFIERS ON PHARMACO- TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF SUPPOSITORIES WITH TAMSULOSIN HYDROCHLORIDE

The authors of the article have studied the effect of the type and concentration of emulsifiers on pharmacotechnological properties of suppositories with Tamsulosin hydrochloride for the treatment of prostatic hyperplasia. The objects of research were samples of Tamsulosin hydrochloride suppositories made from solid fat by moulding, with the addition of

emulsifiers Lanette SX, Cremophor RH- 40, Sympatens W/230. The study of the influence of the type and concentration of emulsifiers on disintegration ability and fracture resistance of the suppositories has been also made.

The research results showed that introduction of emulsifiers into the suppository base positively affects on the change of pharmacotechnological properties of the suppositories, and allowed to choose emulsifier Lanette SX in a concentration of 5% for the developed suppository composition. The increase of the emulsifier concentration to more than 5% does not significantly affect the change of pharmacotechnological parameters.

Keywords: suppositories, surfactants, pharmacotechnological properties.

ЛИТЕРАТУРА

1. The development of human benign prostatic hyperplasia with age / S.J. Barry [et al.] // J. Urol. – 2004. – Vol. 132. – P. 474–479.
2. B. Fibbi. Chronic inflammation in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. / Penna G., Morelli A. // Int. J. Androl. – 2010; 33 – P. 475–488.
3. Keating, G.M. Dutasteride/Tamsulosin: in benign prostatic hyperplasia. / G.M. Keating // Drugs Aging. – 2012; 29(5). – P. 405–419.
4. Narayan, P. Long-term efficacy and

safety of tamsulosin for benign prostatic hyperplasia / P. Narayan, H.S. Tunuguntla // Rev Urol. – 2005. – Vol.7. Suppl 4. – P. 42–48.

5. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. для студ. вищ. фарм. навч. закл. / І.М. Перцев [та ін.]; за ред. І.М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.

6. Поверхностно-активные вещества и композиции. Справочник / Под ред. М.Ю. Плетнева. – М.: ООО «Фирма Клавель», 2002 – 768 с.

7. Державна Фармакопея України /

Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

Адрес для корреспонденции:

61168, Украина,
г. Харьков, ул. Блюхера, 4
Национальный фармацевтический университет,
кафедра заводской
технологии лекарств,
тел.: 0572– 67–88–52,
vita.gritsenko@mail.ru
Гриценко В.И.

Поступила 14.03.2014 г.

С.Б. Сеткина¹, О.М. Хишова², Л.В. Зубкевич¹, А.В. Каплин¹, Е.В. Каплина¹

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ПРИМЕСЕЙ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ, СОДЕРЖАЩИХ КЛОПИДОГРЕЛЯ БИСУЛЬФАТ

¹УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»

²УО «Витебский государственный медицинский университет»

В данном исследовании была выполнена сравнительная оценка количественного и качественного содержания примесей в оригинальном и трех генерических лекарственных средствах, содержащих клопидогреля бисульфат. Для исследования были выбраны генерические лекарственные средства с наибольшим уровнем вариабельности по биофармацевтическим параметрам. Количественное и качественное определение примесей клопидогреля выполняли хроматографическим методом с УФ детектированием. Для определения содержания R-энантиомера клопидогреля использовали энантиоспецифический метод разделения с использованием хиральной колонки. По результатам исследования были установлены значимые различия содержания идентифицируемых и неидентифицируемых примесей, включая продукт энантиомерной инверсии, между генерическими и оригинальными лекарственными средствами, что может быть обусловлено существенными различиями по совокупности биофармацевтических параметров.

Ключевые слова: клопидогрель, примеси, биофармацевтические факторы.

ВВЕДЕНИЕ

Важной составляющей фармацевтической разработки лекарственной формы является обеспечение ее стабильности при заданных условиях хранения, что означает подбор совокупности биофармацевтических факторов, гарантирующих сохранение параметров готовой лекарственной формы в рамках спецификации и требуемых параметров биодоступности. Процесс производства и хранения лекар-

ственных средств (ЛС) сопряжен с риском инициации в лекарственной форме различных физико-химических процессов, направленных, в том числе, на разрушение действующего или вспомогательных веществ с образованием соединений, отличных от них по своим физико-химическим свойствам и именуемых примесями [1]. Образование данных нежелательных компонентов даже в незначительных количествах может оказывать неблагоприятное воздействие на параметры эффективности

и безопасности ЛС. В соответствии с действующими требованиями пути образования примесей в процессе производства и хранения должны тщательно изучаться на этапе фармацевтической разработки и исследований стабильности, а их наличие и количественное содержание в последующем контролироваться.

Содержащиеся в лекарственной форме примеси могут быть разделены на две категории: примеси, связанные с процессом синтеза действующего вещества, и примеси, образующиеся в процессе производства и хранения готовой лекарственной формы в результате различных процессов деградации исходных соединений [2]. Особый интерес с точки зрения моделирования биофармацевтических факторов вызывает именно вторая группа примесей, характеризующаяся непосредственной зависимостью от различных факторов, в той или иной степени влияющих на их качественные и количественные характеристики. Данная зависимость обусловлена влиянием биофармацевтических факторов на различные механизмы разрушения действующего и вспомогательных веществ: гидролитический, окислительный, фотолитический и термолитический. Так, используемые в ходе производства высокоэнергетические технологические процессы могут внести некоторую степень аморфизации в высококристаллический материал, повышая тем самым локальные уровни влажности и химической активности. Использование влажной грануляции наряду с температурным режимом также может создавать условия, благоприятствующие протеканию процессов гидролитической и окислительной деградации. Крайне многоплановым может являться воздействие вспомогательных веществ на стабильность активного ингредиента, поскольку являясь, как правило, фармакологически неактивными, вспомогательные вещества, а также присутствующие примеси могут проявлять выраженную химическую активность. Механизмы реализации данного воздействия могут включать непосредственное окисление, создание среды, благоприятствующей протеканию гидролиза, каталитическое воздействие на процессы деградации и иные. Исходя из этого, обязательным этапом фармацевтической разработки должно являться изучение структуры действующего вещества, возможных

путей и условий его разрушения и проведение предварительных исследований по оценке совместимости со вспомогательными веществами в условиях стресстестов [3].

Влияние процессов деградации на параметры эффективности и безопасности ЛС как с точки зрения возможного появления примесей различного токсикологического профиля, так и снижения содержания действующего вещества, делает их тщательное изучение и оценку крайне критичными при выполнении технологической разработки ЛС, в особенности применяемых при жизнеугрожающей патологии. В целях оценки степени влияния различных биофармацевтических факторов на параметры стабильности ЛС со свойствами физико-химической нестабильности была выполнена работа по сравнительному изучению количественного и качественного содержания примесей в ЛС на основе клопидогреля.

Клопидогрель бисульфат (рисунок 1), метил(+)- α -(2-хлорфенил)-6,7-дигидроотиено-[3,2-с]пиридин-5(4Н)-ацетат сульфат, относится к классу тиенопиридиновых антиагрегантных средств, широко используемых с целью предупреждения тромбообразования при коронарных, церебральных и периферических сосудистых заболеваниях. Антиагрегантное действие клопидогреля реализуется за счет необратимой блокады АДФ-зависимых P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов, участвующих в процессе агрегации и связывания с фибрином.

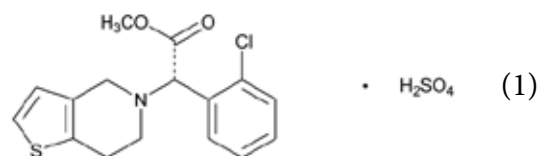


Рисунок 1 – Клопидогрель бисульфат

Клопидогрель характеризуется наличием двух стереоизомеров (R и S), при этом фармакологически активным является S-стереоизомер. R-стереоизомер (рисунок 2) характеризуется отсутствием фармакологического (антиагрегантного) действия и иным профилем безопасности. Содержание R-энантиомера контролируется в готовом лекарственном средстве как примесь С.

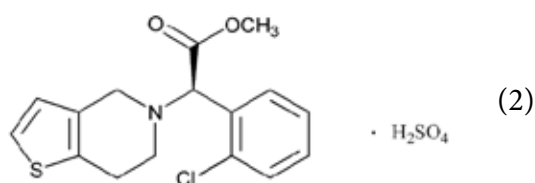


Рисунок 2 – R-стереоизомер клопидогреля

Для клопидогреля описаны пути кислотного, щелочного гидролитического разложения, окислительной и фотодегградации, а также влияние температурного фактора на процесс разрушения молекулы [4]. Клопидогрель содержит сложноэфирную группу и является соединением, легко подвергающимся гидролизу с образованием фармакологически неактивного соединения.

Продукт гидролиза клопидогреля (рисунок 3) представляет собой деметилированное соединение, его образование снижает содержание действующего вещества и контролируется в готовой лекарственной форме как примесь А. Экспериментальными данными [5] подтверждена возможность протекания в лекарственной форме клопидогреля энантиомерной инверсии с превращением активного S-энантиомера в неактивный R-энантиомер.

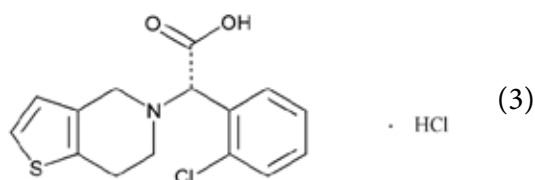
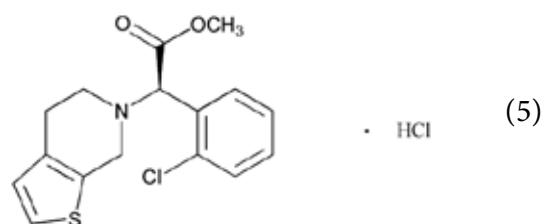
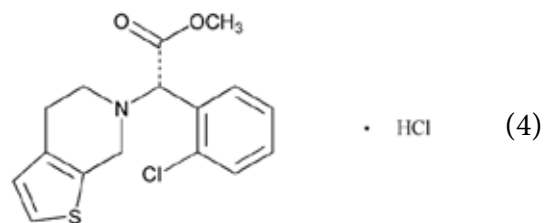
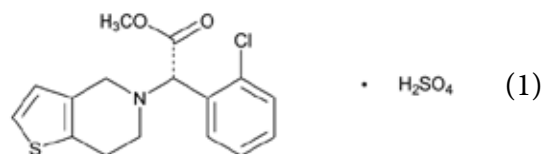


Рисунок 3 – Продукт гидролиза (деметилированное соединение) клопидогреля

Кроме того, контролируемые являются примеси В1 и В2 (рисунок 4), представляющие собой позиционные изомеры по отношению к клопидогрелю и образующиеся в процессе его синтеза. С точки зрения контроля стабильности действующего вещества и оценки влияния биофармацевтических факторов на процессы деградации, особый интерес представляет сравнительное определение в выборке генерических копий примесей А, С и ряда неидентифицируемых примесей, являющихся показателями стабильности лекарственной формы в процессе производства и хранения.



- (1) – клопидогреля бисульфат;
 (4) – позиционный изомер (В₁);
 (5) – позиционный изомер (В₂)

Рисунок 4 – Структурные (позиционные) по положению 2-ой связи в кольце тиофена изомеры, образующиеся в процессе синтеза клопидогреля

Проблема различной стабильности генерических копий клопидогреля уже являлась предметом системного изучения [5]. Так, группой исследователей под руководством E.Gomez была выполнена оценка стабильности 18 генерических копий клопидогреля по сравнению с оригинальным лекарственным средством Плавикс, в результате которой было установлено, что в 60% тестируемых ЛС содержание продуктов гидролитического расщепления и энантиомерной инверсии (примесей А и С) более чем в 4 раза превысило содержание таковых в оригинальном лекарственном средстве. С точки зрения оптимизации фармацевтической разработки данного ЛС и обеспечения требуемого уровня эффективности и безопасности на протяжении всего срока хранения крайне важным представляется определение ключевых биофармацевтических факторов, непосредственно влияющих на процессы деградации (в том числе гидролитической) и энантиомерной инверсии.

Целью исследования являлось провести сравнительную оценку содержания примесей в лекарственных средствах, со-

державших клопидогреля бисульфат, в зависимости от различных биофармацевтических факторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения оценки влияния совокупности биофармацевтических факторов на стабильность клопидогреля была определена выборка из трех генерических ЛС, имеющих наибольший уровень вариабельности по совокупности биофармацевтических параметров, и выполнены исследования по качественной и количественной оценке примесей, включая определение неактивного энантиомера. Включенные в выборку генерические ЛС характеризовались значительными отличиями по составу, физико-химическим и функциональным свойствам вспомогательных веществ: производителями генерических ЛС использовалась лактоза, в том числе лактозы моногидрат в качестве наполнителя вместо маннитола, кальция либо магния стеарат в качестве антифрикционных веществ вместо гидрогенизированного касторового масла, а также иные комбинации дезинтегрантов. Выполненное исследование по оценке эквивалентности *in vitro* [10] показало значимые отличия между оригинальным и генерическими ЛС в оцениваемой выборке по кинетике растворения, что свидетельствует об имеющихся также отличиях в технологии производства данных ЛС.

Образцы и реагенты. В качестве препарата сравнения использовали оригинальное лекарственное средство Плавикс (клопидогрель), таблетки 75 мг, производства SANOFI WINTH ROPIN DUSTRIE, Франция (серия 1A118). Для оценки влияния биофармацевтических факторов на качественные и количественные параметры определяемых примесей использовали три генерических ЛС: генерическое ЛС 1 (Республика Беларусь), генерическое ЛС 2 (Украина), генерическое ЛС 3 (Индия). В качестве стандартного образца клопидогреля бисульфата использовали стандартный образец производства «Arti Drugs Ltd» (Индия), 99,97% чистоты.

При выполнении качественного и количественного определения примесей в выборке ЛС использовали следующие реагенты: ацетонитрил для ВЭЖХ, чистота более 99,8% (производство Merck KGaA (Германия); хлористоводородная кисло-

та, калия хлорид, фосфорная кислота, калия дигидрогенфосфат квалификации «х.ч.» или «ч.д.а»). При проведении испытания использовали воду дионизованную, полученную с использованием установки очистки и деионизации Simplisity UV System, Millipore, Франция (сопротивление не менее 18 Мом, ТОС не более 5 мкг/л, микроорганизмы менее 1 CFU/мл).

Оборудование. Хроматографический анализ выполняли с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1290 Infinity, включающего 2-х градиентный насос, термостатируемый автосамплер, термостат колонок, диодно-матричный детектор со стандартной кюветой. При работе с получаемыми данными использовали программное обеспечение Open Lab для управления, сбора и обработки данных. Хроматографирование выполняли с использованием хиральной хроматографической колонки UltronES-OVM, диаметром 4.6 мм × 150 мм, зернением частиц 5 мкм.

Хроматографические условия определения. В качестве элюента использовали смесь из 75% ацетонитрила и 25% 0,01 М калия дигидрогенфосфата. Скорость потока составляла 1 мл/мин, температура термостата колонок – 40°, объем вводимой пробы – 1 мкл. Данные условия хроматографирования являются оптимальными для разделения примесей клопидогреля с использованием данной колонки [6-8]. Детектирование выполняли в УФ диапазоне при длине волны 220 нм, ширина оптической полосы – 16 нм. Время удерживания клопидогреля – 2,839 мин (RSD=0,4 %). Общее время одного анализа не превышало 4 мин. Валидация используемой методики анализа была выполнена в химико-аналитическом отделе Республиканской клинико-фармакологической лаборатории УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» МЗ РБ. Валидация включала определение специфичности, линейности, правильности, прецизионности, робастности (стабильность времен удерживания, симметрии/асимметрии, хроматографической эффективности) [9]. Тест пригодности хроматографической системы был выполнен с определением относительных времен удерживания исследуемых примесей по отношению к времени удерживания клопидогреля и разрешении пиков исследуемых примесей и клопидогреля.

Подготовку образцов для определения

примесей в ЛС осуществляли следующим образом. Определяли взвешиванием среднюю массу 5 таблеток (таблица 1). Затем пять таблеток каждого ЛС тщательно измельчали растиранием и отбирали по две навески измельченного порошка, эквивалентных массе одной таблетки каждого ЛС и соответственно 75 мг клопидогреля. Навески растворяли в метаноле в колбе вместимостью 25 мл. Полученные растворы фильтровали, отбирали 1,6 мл полученного раствора и разбавляли метанолом в мерной колбе вместимостью 10 мл. Расчетная концентрация клопидогреля в растворе составляет 0,48 мг/мл. Полученные растворы анализировали на содержание примесей. Однородность массы оценива-

ли путем взвешивания 5 таблеток каждого из анализируемых ЛС.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Однородность массы. Полученные результаты (таблица 1) свидетельствовали о соответствии тестируемых образцов требованиям нормативного документа [11].

Оценка пригодности хроматографической системы. Данные, полученные при проведении теста пригодности системы, приведены в таблице 2 и на рисунках 5 и 6.

Полученные значения соответствуют требованиям USP- 32 и позволяют идентифицировать наличие примесей в ЛС.

Таблица 1 – Средняя масса таблеток при определении примесей в лекарственных средствах на основе клопидогреля

Масса таблеток, мг (n=5)			
Плавикс	Генерическое ЛС 1	Генерическое ЛС 2	Генерическое ЛС 3
249,8	208,9	262,4	305,8
245,8	210,0	265,9	298,8
252,4	208,6	259,2	303,8
244,9	210,3	257,7	298,9
258,7	205,1	260,5	303,7
Ср. =250,3	Ср. = 208,6	Ср. = 261,1	Ср. = 302,2
Откл. = 5,6	Откл. = 2,1	Откл. = 3,2	Откл. = 3,2
RSD,% = 2,2	RSD,% = 0,99	RSD,% = 1,2	RSD,% = 1,0

Таблица 2 – Пригодность хроматографической системы при разделении примесей в ЛС на основе клопидогреля

Наименование соединения	Время удерживания, мин (n=2-3)	Относительное время удерживания	Разрешение
Примесь В1	5,936; 5,942; 5,949 Ср. знач.= 5,942 (RSD=0,11%)	0,84	2,922
Клопидогрель	7,066; 7,081; 7,088 Ср. знач.= 7,078 (RSD=0,16%)	1,00	-
Примесь В2	7,984; 7,996; 7,999 Ср. знач.=7,993 (RSD=0,09%)	1,13	-
Примесь А	3,996; 3,998 Ср. знач.= 3,997 (RSD=0,035 %)	0,56	-
Примесь С	12,750; 12,722 Ср. знач.= 12,736 (RSD= 0,155 %)	1,8	-

Оценка количественного содержания примесей в тестируемых ЛС. Результаты оценки качественного и количественного содержания примесей в тестируемых клопидогрельсодержащих ЛС приведены в таблице 3.

В отношении примеси А (продукта гидролитического расщепления) выявлено 11-кратное превышение ее содержания

в генерических ЛС 1 и 2 по сравнению с оригинальным ЛС. В генерическом ЛС 3 содержание данной примеси превысило таковое в оригинальном ЛС в 5 раз. Содержание неактивного энантиомера (примесь С) варьировало в генерических копиях существенно, превышая таковое в оригинальном ЛС от 3,4 (генерическое ЛС 1) до 4,9 раз (генерическое ЛС 2). Общее



Рисунок 5 – Хроматографическая пригодность разделения клопидогреля и примесей В1 и В2

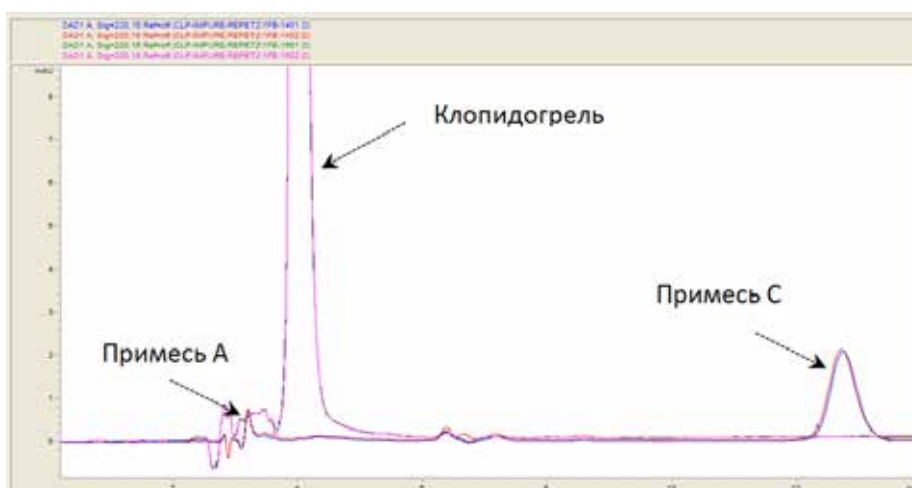


Рисунок 6 – Хроматографическая пригодность разделения клопидогреля и примесей А и С

Таблица 3 – Содержание примесей в исследуемых ЛС

Наименование примеси	Площади пиков примесей			
	Плавикс	Генерическое ЛС 1	Генерическое ЛС 2	Генерическое ЛС 3
Примесь А	1,9	21,8	21,3	9,5
Примесь В1	6,1	22,1	3,6	0,74
Примесь В2	-	-	-	-
Примесь С	25,5	87,3	126	7,3
Сумма площадей идентифицируемых примесей	33,5	131,2	150,9	17,5
Сумма примесей тестируемых ЛС по отношению к ЛС Плавикс	1	3,9	4,5	0,52

содержание идентифицируемых примесей превысило референтные значения в 3,9 (генерическое ЛС 1) и 4,5 (генерическое ЛС 2) раза, для генерического ЛС 3 соот-

ношение 0,52 обусловлено более низким содержанием примеси С при превышении содержания примеси А. Обращает на себя внимание (рис. 10) наличие и значитель-



Рисунок 7 – Совмещенные хроматограммы примесей клопидогреля генерического ЛС 1



Рисунок 8 – Совмещенные хроматограммы примесей клопидогреля генерического ЛС 2

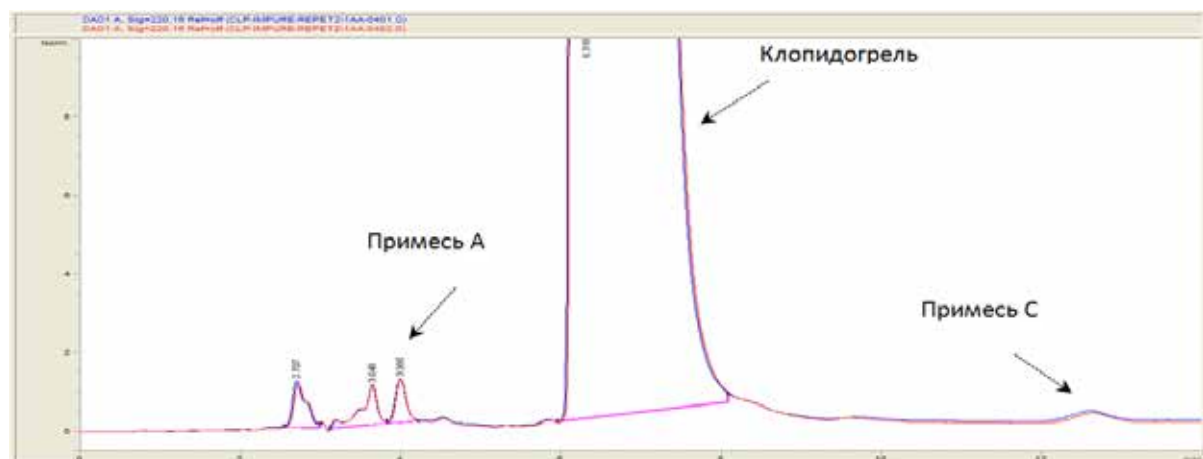


Рисунок 9 – Совмещенные хроматограммы примесей клопидогреля генерического ЛС 3



Рисунок 10 – Совмещенные хроматограммы примесей клопидогреля ЛС Плавикс

ное содержание в генерических копиях ряда неидентифицируемых примесей в зоне примеси А (продукта гидролитического разложения), что может свидетельствовать о наличии ряда иных примесей, представляющих собой продукты разложения клопидогреля. Исследовательской группой под руководством *A. Mohan* [4] была определена структура одной из неидентифицируемых примесей клопидогреля, выявляемая в зоне близкой к примеси А, обозначенная как примесь Д и являющаяся продуктом окисления клопидогреля. Для генерических ЛС 1 и 2 характерно наибольшее содержание неидентифицированных примесей в данной зоне, практически не определяемых в оригинальном ЛС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено существенное (от 5 до 11 раз) превышение содержания продукта гидролитического расщепления (примеси А) в генерических ЛС, содержащих клопидогрель, по сравнению с оригинальным лекарственным средством. Содержание неактивного R-энантиомера превысило таковое значение в оригинальном лекарственном средстве от 3,4 до 4,9 раз в генерических ЛС 1 и 2, соответственно. Существенные отличия по качественному и количественному содержанию неидентифицированных примесей в зоне идентификации продуктов окислительной и гидролитической деградации также определены для генерических копий 1 и 2. Полученные данные согласуются с данными других ис-

следователей [5], выявивших существенную вариабельность по данному показателю стабильности в выборке генерических ЛС, содержащих клопидогрель.

Таким образом, выявленные в ходе данного исследования различия в содержании продуктов разложения и энантиомерной инверсии в выборке генерических копий, характеризующихся определенными отличиями по совокупности биофармацевтических параметров, свидетельствуют о важности тщательного изучения на этапе фармацевтической разработки совместимости действующего вещества со вспомогательными веществами, а также путей и условий его деградации в особенности в случае соединений, характеризующихся свойствами физико-химической нестабильности.

SUMMARY

S.B. Setkina, O.M. Khishova,
L.V. Zubkevich, A.V. Kaplin, E.V. Kaplina
COMPARATIVE TESTING OF
THE CONTENT OF IMPURITIES
IN MEDICINES CONTAINING
CLOPIDOGREL BISULPHATE

In this study the comparative evaluation of qualitative and quantitative content of impurities in three clopidogrel bisulphate-containing generic copies in compare with the innovator drug product has been performed. For comparative testing the generic products with the highest variability on the biopharmaceutical parameters were chosen. Chromatographic method with UV detection was used for qualitative and quantitative determination

of the impurities. An enantiospecific method with use of the chiral column was applied for separation of R-enantiomer of clopidogrel. By study results significant difference in the content of identified impurities, including the product of enantiomer inversion, was identified between the innovator and generic products, that could be related to differences in several biopharmaceutical parameters.

Keywords: clopidogrel, impurities, biopharmaceutical factors.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jiben, Roy. Pharmaceutical impurities – A Mini Review. / R.Jiben //AAPS Pharma Sci Tech. – 2002. – 3(2). – P. 1–8.

2. Guidance for Industry. Q3A Impurities in New Drug Substances. U S Department of Health and Human Services. Food and Drug Evaluation and Research. – June 2008. – ICH. Revision 2.

3. Michael, K. Forced Degradation Studies:Regulatory Considerations and Implementation Stress testing studies are conducted to challenge specificity of stability-indicating and impurity-monitoring methods as part of validation protocol / K. Michael // BioPharmInt. – 2005. – P. 1–7.

4. Mohan, A. Identification and characterization of a principal oxidation impurity in clopidogrel drug substance and drug product / A. Mohan // J. Pharm Biomed Anal. – 2008. № 47 (1). – P. 183-189.

5. Gomez, Y. Analysis of purity in 19 drug products tablets containing clopidogrel: 18 copies versus the original brand // Y.Gomez, E. Adoms, J. Hoogmartens // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – № 34. – P. 341-348.

6. Development of Normal Phase Chiral Liquid Chromatographic Method for determination of Methyl (-) - (R) - (o-chlorophenyl) -6, 7- dihydrothieno [3, 2-C] pyridine -5(4H)-acetate, hydrogen sulphate from ClopidogrelBesylate. / P. Pawaskar [et al.]// Int. J. Pharm Sci. – 2013. – №5(1). –

P. 1971-1976.

7. Physico-Chemical Studies on Stability Clopidogrel Tablet Formulation / Y. Sanjeva [et al.] //Int. J. Pharm Bio Sci. – 2012; 3(4). – P. 433-439.

8. Development of Reverse Phase Liquid Chromatographic Method for Determination of (+)-(S)-(o-Chlorophenyl)-6,7-Dihydrothieno [3,2-c] pyridine-5(4H)-acetic acid,Hydrochloride and Methyl (+/-) - (o-Chloro phenyl)-4,5-Dihydrothieno[2,3-c] pyridine-6(7H)-acetate, Hydrochloride from Clopidogrel Besylate. / P.S. Pawaskar [et al.] // Int. J. Pharm. Res. Sch. – 2013. – № 2(1). – P. 16-23.

9. Guideline on bioanalytical method validation. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 21 July 2011.

10. Влияние биофармацевтических факторов на эквивалентность *in vitro* воспроизведенных лекарственных средств на основе клопидогреля /С.Б. Сеткина [и др.] // Вестник фармации. – 2014. – № 1(63). – С. 33-38.

11. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств. Регистрационные требования и правила проведения исследований биодоступности и биоэквивалентности генерических лекарственных средств. 2.9.3. Тест «Растворение» для твердых дозированных форм /М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общей ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012 – С. 430.

Адрес для корреспонденции:

220037, Республика Беларусь,
г. Минск, пер. Товарищеский, 2а,
УП «Центр экспертиз и испытаний
в здравоохранении»,
тел. + 17 299 53 58,
rcpl@rceth.by.
Сеткина С.Б.

Поступила 21.04.2014 г.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

И.Л. Комарицкий², О.М. Хишова¹, Н.Ю. Бевз², В.А. Георгиянц²

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМЛОДИПИНА БЕСИЛАТА МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

²Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

В статье приведены результаты проведенной разработки и валидации методики количественного определения амлодипина бесилата методом спектрофотометрии. Изучены валидационные характеристики: правильность, сходимоссть, линейность и прецизионность.

Ключевые слова: амлодипина бесилат, валидация, количественное определение, блокаторы кальциевых каналов, спектрофотометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Заболелания сердечно-сосудистой системы в последние годы занимают одно из первых мест в мире, поэтому количество кардиологических лекарственных средств (ЛС) значительно увеличивается. Многочисленные исследования [1–3] свидетельствуют о том, что при помощи регулярной терапии гипотензивными ЛС удается на 40–45% снизить летальность вследствие мозгового инсульта и на 15–20% от инфаркта миокарда. Для эффективного и безопасного использования ЛС этой группы необходимо повышать требования к контролю их качества путем разработки новых и усовершенствования существующих методов фармацевтического анализа.

Количественное определение амлодипина бесилата в субстанции Британская фармакопея рекомендует проводить гармонизированным с Европейской фармакопеей методом жидкостной хроматографии [4,5].

В лекарственных формах количественное определение амлодипина бесилата проводят методом ВЭЖХ и экстракционно-спектрофотометрическим методом, который базируется на образовании окрашенных комплексов [6–8].

Целью настоящего исследования является анализ метрологических характеристик количественного спектрофотометрического определения амлодипина бесилата в таблетках и проведение валидации ана-

литической методики по методу стандарта в условиях контрольно-аналитической лаборатории.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведен теоретический расчет критериев приемлемости методики анализа: максимально допустимая полная неопределенность методики, которая составляет $\Delta A_s = 2,4\%$, максимальная систематическая ошибка $\max \delta = 0,77\%$. Вклад плацебо в суммарную величину фонового поглощения является незначимым и им можно пренебречь, если выполняется соотношение $\delta \leq 0,75\%$, критическое значение $RSD_{\%}^{exc} = 1,27$, критическое значение индекса корреляции – $R_c = 0,9912$, критическое значение практической неопределенности свободного члена линейной зависимости – $a = 3,84$.

При проведении исследований использовали субстанцию амлодипина бесилата серии № АВ0401013.

Аналізу подвергали таблетки «Амлодипин-Здоровье», серия № 20113, производитель ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье»; таблетки «Амлодипин», серия № 10213, производитель ЧАО «Технолог»; таблетки «Амлодипин-Фармак», серия № 150313, производитель ОАО «Фармак».

Аналитическое оборудование: спектрофотометр Evolution 60S; весы AXIS ANG200. Для работы использовали реактивы, мерную посуду класса А (перво-

го класса) и вспомогательные вещества, которые отвечали требованиям Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) [9].

Количественное определение амлодипина бесилата в таблетках методом стандарта проводили при помощи измерения оптических плотностей раствора исследуемого образца (A_1) и раствора сравнения (A_0) с концентрацией C_0 . Содержание амлодипина (X) в одной таблетке в миллиграммах рассчитывали по формуле

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot 0,721}{A_0 \cdot m_1} \cdot \frac{P}{100},$$

где m_0 – масса навески ЛС, в мг;

m_1 – масса навески стандартного образца (СО) амлодипина бесилата, в мг;

P – содержание амлодипина бесилата в СО амлодипина бесилата в процентах;

0,721 – коэффициент перерасчета амлодипина бесилата на амлодипин;

b – средняя масса таблетки, в мг.

Измерения проводили с использованием кюветы толщиной 1 см при температуре $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ в одинаковых условиях с минимальным интервалом во времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во время проверки физико-химических свойств амлодипина бесилата было выяснено, что субстанция нерастворима в воде, в растворе натрия гидроксида возможно выпадение осадка амлодипина, а также возможно его взаимодействие со щелочью, с образованием соли аци-нитро производной. Поэтому альтернативным растворителем выбрали 0,01 М раствор хлористоводородной кислоты, при предложенной пробоподготовке и концентрации действующего вещества $5 \cdot 10^{-5}$ г/мл обеспечивается оптимальная оптическая плотность в пределах 0,4–0,7, что существенно повышает точность исследования.

Была исследована робастность методики во времени (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты исследования робастности методики количественного определения амлодипина бесилата

Раствор	Время исследования стабильности nt, мин					Среднее	RSD _t , %	Δ_t , %	max δ , %
	0	15	30	45	60				
Исследуемый	0,629	0,627	0,626	0,626	0,626	0,627	0,208	0,362	0,77
Стандартный	0,628	0,629	0,628	0,627	0,628	0,628	0,113	0,196	

Данные, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о стабильности исследуемого и стандартного образцов во времени, что подтверждает правильность выбора растворителя.

Нами был проанализирован спектр поглощения амлодипина бесилата на участке от 200 до 400 нм, а также спектр плацебо (рисунок 1). Полученный спектр поглощения имеет максимумы при дли-

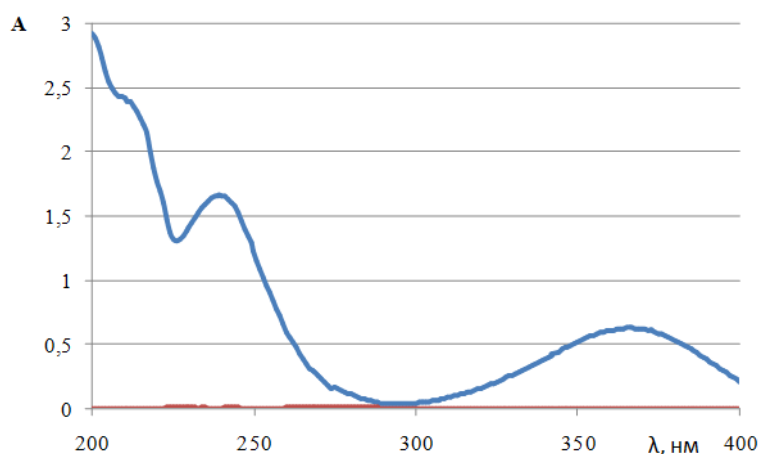


Рисунок 1 – Абсорбционный спектр поглощения стандартного образца (СО) амлодипина бесилата (1) и плацебо (2)

нах волн 240 нм и 366 нм, что отвечает аналитической длине волны, которую рекомендуют Европейская и Британская фармакопеи для идентификации субстанции амлодипина бесилата. Пик при длине волны 366 нм является более специфичным для амлодипина бесилата, поэтому мы выбрали его для проведения методики количественного определения. При длине волны 366 нм оптическая плотность раствора амлодипина бесилата в 0,01 М HCl с концентрацией 0,05 мг/мл составляет 0,629, что оптимально для проведения исследования.

Установлено, что влияние плацебо на суммарное поглощение ЛС составляет

$$\frac{A_{blank}}{A_{st}} \cdot 100 = \frac{0,002}{0,629} \cdot 100\% = 0,3\% \leq 0,75\%$$

Это значит, что фоновое поглощение является незначимым и методика характеризуется надлежащей специфичностью.

Оценку *линейной зависимости* проводили на всём диапазоне применения методики по методу стандарта. Изучали характер зависимости оптической плотности от концентрации, используя 9 модельных растворов для анализа с точными навесками концентраций: 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 и 120% от номинальной.

Полученные результаты были статистически обработаны методом наименьших квадратов согласно требованиям ГФУ. Построение градуировочного графика проводили в нормализованных координатах (рис. 2). Для каждого из девяти растворов образца рассчитывали среднее значение оптической плотности (A_i). Полученные результаты обрабатывали методом наименьших квадратов для прямой $Y = b \cdot x + a$. Рассчитанные статистические величины b , S_b , a , S_a , S_r (остаточное стандартное отклонение) и r (коэффициент корреляции) приведены на рисунке 2 и в таблице 2.

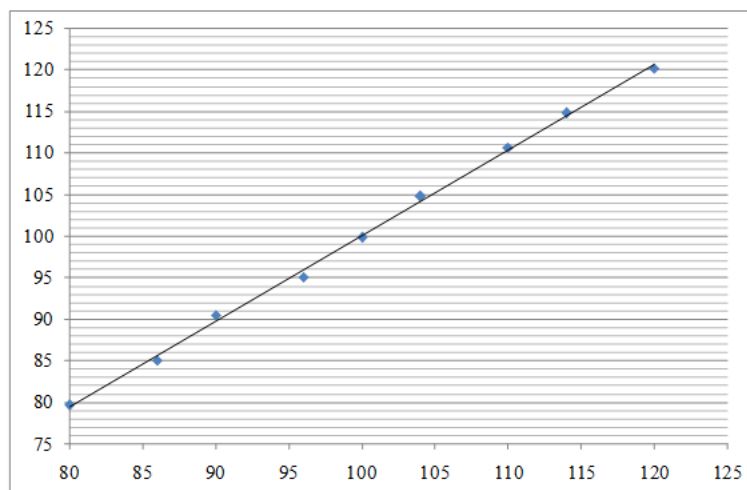


Рисунок 2 – Зависимость оптической плотности от концентрации амлодипина бесилата в нормализованных координатах

Требования к параметрам линейной зависимости в нашем случае выполняются на всем диапазоне применения методики (80 – 120%).

Для проведения измерений и расчета метрологической оценки сходимости и правильности методики было получено три значения оптических плотностей для раствора сравнения и 27 значений оптических плотностей для модельных растворов. Рассчитывали фактические величины ($X_{i\text{факт}}$), отношения средних значений оптических плотностей для каждого из

27 растворов к среднему значению оптической плотности раствора сравнения, получая величины $X_i\% = (C_i / C_{st}) \cdot 100\%$, $Y_i = (A_i / A_{st}) \cdot 100$, а также величину $Z_i = (Y_i / X_i) \cdot 100\%$, которая является найденной концентрацией в процентах к введенной. Результаты расчетов приведены в таблице 3.

Использование метода стандарта дает возможность нивелировать погрешность, поскольку пробоподготовка и измерение оптической плотности исследуемого раствора и раствора сравнения проводятся в одинаковых условиях, в той же кювете,

Таблица 2 – Параметры линейности

Растворы	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$(C_i/C_{st}),\%$	80,00	86,00	90,00	96,00	100,00	104,00	110,00	114,00	120,00
$(A_i/A_{st}),\%$	79,65	85,06	90,46	95,07	99,84	104,77	110,65	114,79	120,19

$$Y_i = 1,0307 \cdot X_i - 3,0169$$

Угловой коэффициент линейной зависимости b	1,03
s_b	0,0156
Свободный член линейной зависимости a	-3,01
s_a	1,57
Остаточное стандартное отклонение s_r	0,587
s_r/b	0,57
Коэффициент корреляции методики r	0,9992

Таблица 3 – Результаты анализа модельных растворов и их статистическая обработка

	Концентрации компонентов		
	Введено в % к концентрации раствора сравнения $X_i = (C_i/C_{st}) \cdot 100\%$	Найдено в % к концентрации раствора сравнения $Y_i = (A_i/A_{st}) \cdot 100\%$	Найдено в % к введенному $Z_i = (A_i/A_{st}) \cdot 100\% / (C_i/C_{st})$
1 раствор	80,0	79,6	99,6
2 раствор	86,0	85,1	98,9
3 раствор	90,0	90,5	100,5
4 раствор	96,0	95,1	99,0
5 раствор	100,0	99,8	99,8
6 раствор	104,0	104,8	100,7
7 раствор	110,0	110,6	100,6
8 раствор	114,0	114,8	100,7
9 раствор	120,0	120,2	100,2
Среднее, $X\%$			100,0
Относительное стандартное отклонение, $s_x\%$			0,708
Относительный доверительный интервал $\Delta\% = t(95\%, 8) \cdot s_x = 1,86$			1,3
Критическое значение для сходимости результатов $\Delta\% \leq$			2,4
Систематическая погрешность $\delta = X - 100 $			0
Критерий незначимости систематической погрешности 1) $\delta \leq \Delta/3 = 1,3158/3 = 0,4386$, если не выполняется 1), то $\delta \leq 1,3158$			Выполняется Выполняется
Общий вывод по методике:			Корректная

одинаково расположенной напротив той же компенсационной кюветы, на том же спектрофотометре.

Методика количественного определения.

Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой области методом стандарта.

Исследуемый раствор. К точной навеске порошка таблеток, эквивалентной 50 мг амлодипина, прибавляют 75 мл 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной,

перемешивают 25 мин, доводят объем раствора 0,01 М раствором кислоты хлористоводородной до 100,0 мл и фильтруют, отбрасывая первые 10,0 мл фильтрата. 10 мл фильтрата помещают в колбу вместимостью 100,0 мл и доводят до метки 0,01 М раствором кислоты хлористоводородной.

Раствор сравнения. 70,0 мг СО амлодипина бесилата растворяют в 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл, берут аликвоту 10,0

мл и переносят её в колбу вместимостью 100,0 мл, доводя до метки 0,01 М раствором кислоты хлористоводородной.

Компенсационный раствор. 0,01 М раствор кислоты хлористоводородной.

Оптическую плотность исследуемого раствора и раствора сравнения измеряют при длине волны 366 нм относительно компенсационного раствора.

Рассчитывают содержание $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ в одной таблетке, в миллиграммах, в перерасчете на среднюю массу таблетки, исходя из заявленного содержания $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ в СО амлодипина бесилата.

Метрологические характеристики результатов количественного определения таблеток амлодипина бесилата разных производителей представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Метрологические характеристики результатов количественного определения таблеток амлодипина бесилата разных производителей

Производитель	μ , %	ν	\bar{x} , %	S^2	S	P, %	t(P, ν)	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}$, %
Здоровье	100	5	9,94	0,0016	0,0397	95	2,5706	0,046	0,4587
Фармак	100	5	9,94	0,0023	0,0477	95	2,5706	0,055	0,5518
Технолог	100	5	9,95	0,0008	0,0279	95	2,5706	0,032	0,3226

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В процессе разработки и валидации методики количественного определения таблеток амлодипина бесилата были изучены валидационные характеристики спектрофотометрической методики количественного определения методом стандарта амлодипина бесилата в таблетках: правильность, сходимость, линейность и прецизионность.

2. Метрологические характеристики методики не превышают критического значения погрешности (2,4%) и характеризуются качественными аналитическими показателями. Данная методика может быть корректно воспроизведена в условиях лабораторий.

3. Данная методика является корректной независимо от вспомогательных веществ, которые используются при изготовлении модельного раствора, и независимо от производителя.

SUMMARY

I.L. Komarytskiy, O.M. Hishova,
N.Yu. Bevz, V.A. Georgiyants
DEVELOPMENT AND VALIDATION
OF METHOD FOR QUANTITATIVE
DETERMINATION OF AMLODIPINE
BESYLATE BY SPECTROPHOTOMETRY

This article presents the results of the validation method of quantitative determination of amlodipine besylate by spectrophotometry. Validation characteristics that were studied: accuracy, repeatability, linearity and precision.

Keywords: amlodipine besylate, validation, quantification, calcium channel blockers, spectrophotometry.

ЛИТЕРАТУРА

1. Метелица, В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств / В.И. Метелица. – 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во БИНОМ – СПб.: Невский диалект, 2002. – 926 с.

2. Белоусов, Ю.Б. Клиническая фармакология амлодипина (норваска) / Ю.Б. Белоусов, А.Н. Грацианская. - М.: «Универсиум Паблишинг», 1998. – 47с.

3. Contact Pharma. Top companies Report. – July/August. – 2003. – Vol. 5. – № 6. – P. 40.

4. British Pharmacopoeia. – London. The Stationary Office. – 2001. – Vol. 1-2. – 3199 p.

5. European Pharmacopoeia. – 6th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2008. – 2416 p.

6. Determination of amlodipine in pharmaceutical dosage forms by liquid chromatography and ultraviolet spectrophotometry / M.D Malesuik [et al.] // J AOAC Int. – 2006. – Mar-Apr; 89 (2). – P. 359-364.

7. Simultaneous determination of metoprolol succinate and amlodipine besylate in pharmaceutical dosage form by HPLC / Vajjanath G. Dongre [et al.] // J. Pharm. And Biomed. Anal. – 2008. – Vol. 46, issue 3. – P. 583–586.

8. Hanaa, M. Abdel-Wadood. Validated

spectrofluorometric methods for determination of amlodipine besylate in tablets / M. Abdel-Wadood Hanaa, A. Mohamed Niveen, Ashraf M. Mahmoud // Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2008. – Vol. 70, N. 3. – P. 564–570.

9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Доповнення 2. – Харків: ПІРЕГ. – 2008. – 608 с.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра промышленной технологии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-00-13,
Хишова О.М.

Поступила 13.11.2013 г.

Ю.Н. Жук, С.А. Васюк

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОПРОЛОЛА ТАРТРАТА В ТАБЛЕТКАХ

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Разработана методика спектрофотометрического определения метопролола тартрата в видимой области спектра, основанная на измерении оптической плотности окрашенного продукта реакции метопролола тартрата и бромкрезолового пурпурного при 399 нм в среде ацетона. Установлены оптимальные условия количественного определения метопролола тартрата в составе лекарственных форм. Определены коэффициенты стехиометрических соотношений между метопрололом тартратом и бромкрезоловым пурпурным. Проведена валидация разработанной методики по таким валидационным характеристикам, как линейность, прецизионность, правильность и робастность.

Ключевые слова: количественное определение, спектрофотометрический анализ, метопролола тартрат, бромкрезоловый пурпурный.

ВВЕДЕНИЕ

Метопролола тартрат ($C_{15}H_{25}NO_3$) $_2 \cdot C_4H_4O_6$ действует преимущественно на β_1 -адренорецепторы сердца. Обладает антиангинальным, антигипертензивным и антиаритмическим действием. Применяют при стенокардии напряжения, в ранней стадии инфаркта миокарда, для профилактики повторных инфарктов миокарда, при артериальных гипертензиях, тахиаритмиях, гипертиреозидизме, при сердечной недостаточности с тахикардией. Используется также для профилактики мигрени [1].

Количественное определение метопролола тартрата в субстанции Британская фармакопея рекомендует проводить методом неводного титрования [2]. Для этого навеску испытуемой субстанции растворяют в безводной уксусной кислоте и титруют раствором хлорной кислоты.

Точку конца титрования устанавливают потенциометрически. Для определения метопролола тартрата в составе лекарственных форм чаще применяют инструментальные методы анализа, как более чувствительные. Среди них доминируют хроматографические [3, 4] и спектрофотометрические методы анализа в ультрафиолетовой [5–8] и видимой областях спектра [9–11]. Описана методика спектрофотометрического определения в УФ-области спектра метопролола сукцината в таблетках и глазных каплях, заключающаяся в растворении навески лекарственного средства в растворе, содержащем дистиллированную воду, 0,1 М раствор хлороводородной кислоты и фосфатный буфер (6,8), и измерении оптической плотности полученного раствора при 224 нм [12]. Также предложен спектрофотометрический способ количествен-

ного определения метопролола тартрата в лекарственных формах, основанный на образовании окрашенного продукта реакции метопролола тартрата с солями меди (II) и измерении оптической плотности полученного соединения при 675 нм [13]. Несмотря на определенные достоинства описанных методик, некоторые из них являются недостаточно селективными, чувствительными или требуют дорогостоящего оборудования.

Поэтому целью работы стала разработка высокочувствительной, простой в выполнении и валидной спектрофотометрической методики определения метопролола тартрата в лекарственных формах на основе реакции с бромкрезоловым пурпурным (БКП). Для реализации этой цели были поставлены следующие задачи:

- определить оптимальные условия фотометрической реакции метопролола тартрата с БКП и рассчитать аналитические показатели чувствительности реакции;
- установить коэффициенты стехиометрических соотношений «метопролол – БКП»;
- разработать методики количественного определения метопролола тартрата в составе лекарственных форм;
- провести валидацию разработанных методик.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования стали таблетки «Метопролола тартрат» 0,1 г (Фармак (Украина), серия 71111), таблетки «Метопролола тартрат» 0,05 г (Фармак (Украина), серия 50711), таблетки «Корвитол 100» (Berlin-Chemie (Германия), серия 22013), таблетки «Корвитол 50» (Berlin-Chemie (Германия), серия 22026).

В работе использовались следующие реагенты и растворители: стандартный образец метопролола тартрата (Sun Pharmaceutical, серия АН-9-46930), БКП (Шосткинский завод химреактивов, партия 47), ацетон (Lab-Scan, Poch Ирландия, партия 4164/11).

Аналитическое оборудование: спектрофотометр Specord 200, весы электронные АВТ-120-5DM, ультразвуковая баня ELMASONICE60 H.

Общая методика определения метопролола тартрата. Аликвотную часть

– (0,1–0,2 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 10,00 мл, добавляют 1,00 мл 0,04% раствора БКП в ацетоне и доводят ацетоном до метки. Оптическую плотность измеряют на фоне компенсационного раствора, не содержащего исследуемого вещества, при длине волны 399 нм. Как раствор сравнения используют 0,015% раствор стандартного образца метопролола тартрата в ацетоне, содержащем 2% воды.

Определение метопролола тартрата в таблетках. Точную навеску – (0,0300–0,0596 г) «Метопролола тартрата» 0,1 г, (0,0300–0,0600 г) «Метопролола тартрата» 0,05 г, (0,0176–0,0352 г) «Корвитола 100», (0,0180–0,0356 г) «Корвитола 50» переносят в мерную колбу вместимостью 200,00 мл, добавляют 4,00 мл воды очищенной, доводят ацетоном до метки и озвучивают в ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 5 мин. После этого раствор фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата. Из следующих порций фильтрата берут 4,00 мл раствора, переносят в мерную колбу на 10,00 мл, добавляют 1,00 мл раствора БКП, доводят ацетоном до метки и анализируют по общей методике. Параллельно проводят реакцию с 1,00 мл 0,015% раствора стандартного образца метопролола тартрата. Расчет содержания действующего вещества проводят по общепринятой формуле.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При выборе растворителя были учтены растворимость метопролола тартрата и БКП, а также максимальное значение оптической плотности полученного раствора. Экспериментально было установлено, что метопролола тартрат взаимодействует с БКП в среде ацетона, содержащего 2% воды, с образованием окрашенного продукта с максимумом поглощения при 399 нм (рис. 1). Величина молярного коэффициента поглощения составляет $4,1 \cdot 10^4$, что свидетельствует о высокой чувствительности реакции.

Для определения соотношения стехиометрических коэффициентов между метопролола тартратом и БКП использовали метод молярных отношений (метод «насыщения») и метод непрерывных изменений (метод изомолярных серий) [14].

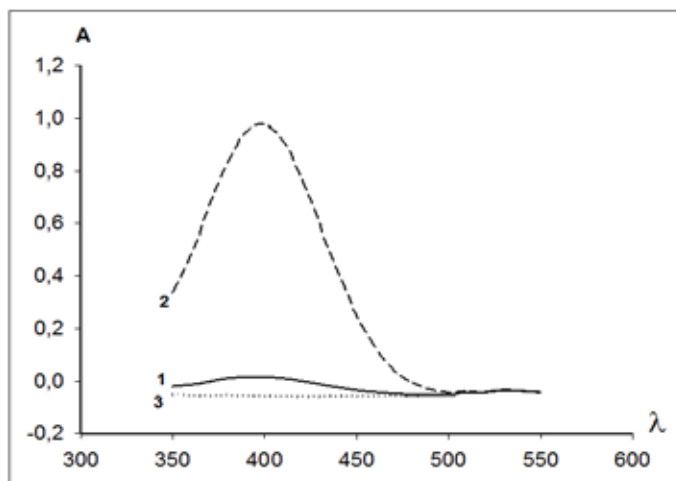


Рисунок 1 – Спектр поглощения БКП (1), продукта реакции метопролола тартрата с БКП (2), метопролола тартрата (3)

Как видно на рисунках 2 и 3, метопролола тартрат взаимодействует с БКП в соотношении 1:2, но в связи с тем, что в составе метопролола тартрата содержится 2

катиона метопролола, продукт реакции содержит монокатион метопролола и моноанион БКП. Таким образом, метопролол взаимодействует с БКП в соотношении 1:1.

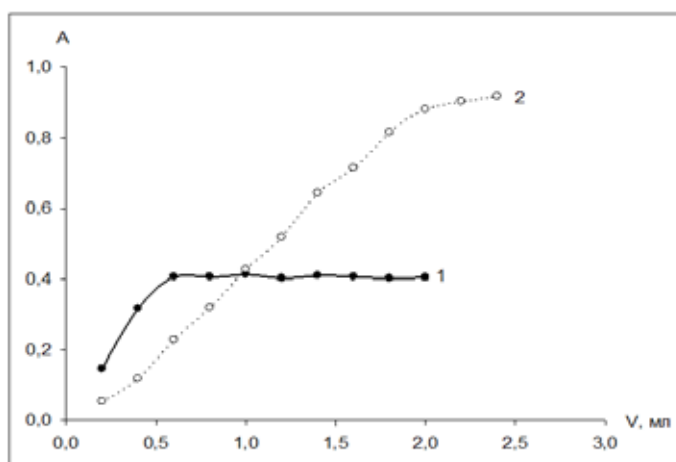


Рисунок 2 – Кривые насыщения метопролола тартрата при постоянной концентрации БКП (1) и БКП при постоянной концентрации метопролола тартрата (2)

Согласно с требованиями Государственной Фармакопеи Украины, методики количественного определения лекарственных средств, которые будут включены в аналитическо-нормативную документацию, должны быть валидированы [15]. Валидация методик количественного анализа лекарственных средств является основным условием обеспечения надежности результатов анализа. Поэтому, для проверки корректности предложенной

методики были определены основные валидационные характеристики, а именно: линейность, прецизионность, правильность и робастность.

Линейность. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации исследуемого вещества находится в пределах 1–2 мг/100 мл. По полученным данным был построен график зависимости оптической плотности от концентрации метопролола тартрата (рисунок 4).

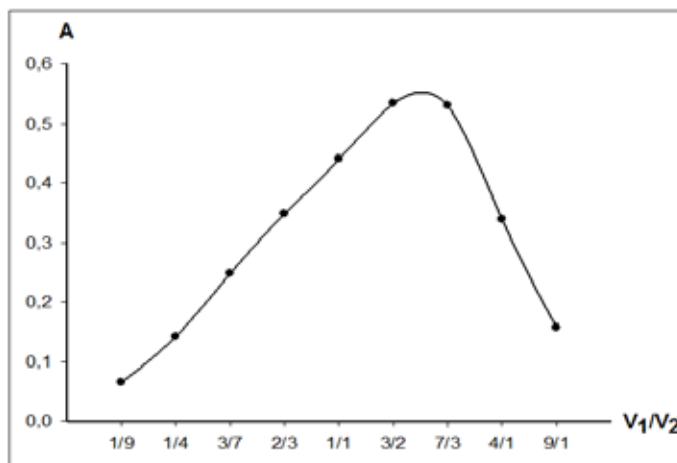


Рисунок 3 – График зависимости величины оптической плотности от состава изомольярного раствора (V_1 – 0,0002 М раствор БКП, V_2 – 0,0002 М раствор метопролола тартрата)

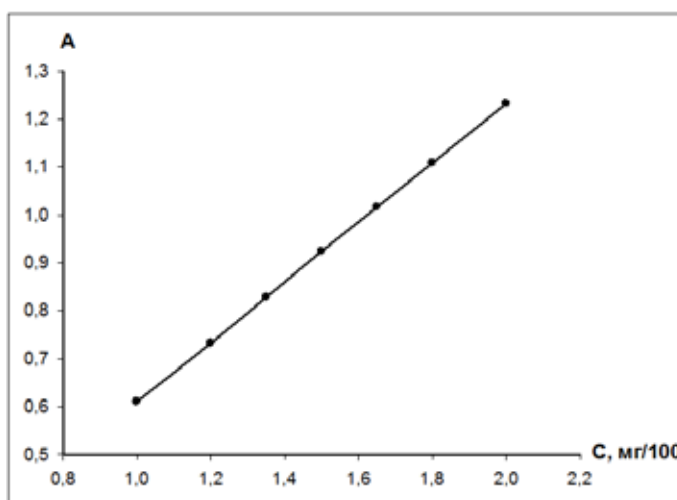


Рисунок 4 – График зависимости оптической плотности от концентрации метопролола тартрата

Полученные результаты, обработанные методом наименьших квадратов, свидетельствуют о линейности методики во всем диапазоне ее применения (таблица 1).

Прецизионность. Прецизионность была определена на уровне сходимости. Для этого для каждой из лекарственных форм было проведено по девять определений, охватывающих диапазон применения методики (три концентрации / три определения для каждой). Как видно из таблицы 2, разработанные методики позволяют получать результаты со сходимостью, достаточной для надежного определения исследуемого вещества в составе лекарственных средств.

Правильность. Правильность была установлена методом добавок. Как видно из таблицы 3, полученные критерии практической незначимости для каждой из лекарственных форм не превышают максимально допустимую неопределенность анализа.

Робастность. Робастность аналитической методики должна доказывать надежность результатов анализа при небольших изменениях параметров методики. Оценка робастности была проведена на стадии разработки методики путем определения факторов, влияющих на величину оптической плотности, а именно: количество добавленных реагентов и стабильность анализируемых растворов во времени.

Было установлено, что анализируемые растворы стабильны в течение не менее 30 минут (рисунок 5).

Было установлено, что при добавлении к анализируемому раствору $\pm 10\%$ БКП

от оптимального оптическая плотность практически не изменяется. Это видно на рисунке 6, где все три спектра (при добавлении 90, 100 и 110% реагента) накладываются друг на друга.

Таблица 1 – Показатели линейной зависимости

Уравнение линейной регрессии	$Y_i = bX_i + a$
Коэффициент корреляции, r	0,9999
Свободный член регрессионной прямой, $a \pm (S_a)$	$-2,018 \pm (0,5435)$
Тангенс угла наклона регрессионной прямой, $b \pm (S_b)$	$1,018 \pm (0,005400)$
Остаточное стандартное отклонение, S_0	0,1702

Таблица 2 – Сходимость результатов количественного определения метопролола тартрата в таблетках

Лекарственная форма	\bar{X} , (n=9)	S	RSD%	Δ_x
«Метопрололатартрат 0,1 г» Фармак	0,100	$7,47 \cdot 10^{-4}$	0,747	$1,39 \cdot 10^{-3}$
«Метопрололатартрат 0,05 г» Фармак	0,0500	$1,54 \cdot 10^{-4}$	0,308	$2,86 \cdot 10^{-4}$
«Корвитол 100» BerlinChemie	0,0965	$1,33 \cdot 10^{-4}$	0,138	$2,47 \cdot 10^{-4}$
«Корвитол 50» BerlinChemie	0,0477	$1,09 \cdot 10^{-5}$	0,0228	$2,03 \cdot 10^{-5}$

Таблица 3 – Правильность результатов количественного определения метопролола тартрата в таблетках

Лекарственная форма	\bar{Z} (n=9)	RSD%	Δ_z	$\bar{Z} - 100$
«Метопрололатартрат 0,1 г» Фармак	100,6	0,0714	0,132	0,62
«Метопрололатартрат 0,05 г» Фармак	100,5	0,185	0,346	0,53
«Корвитол 100» BerlinChemie	99,61	0,191	0,353	0,39
«Корвитол 50» BerlinChemie	100,4	0,0708	0,132	0,44

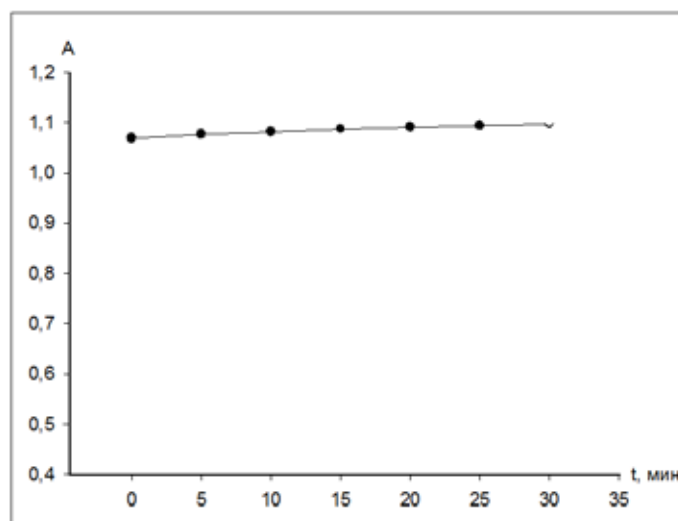


Рисунок 5 – Зависимость оптической плотности продукта реакции метопролола тартрата с БКП от времени

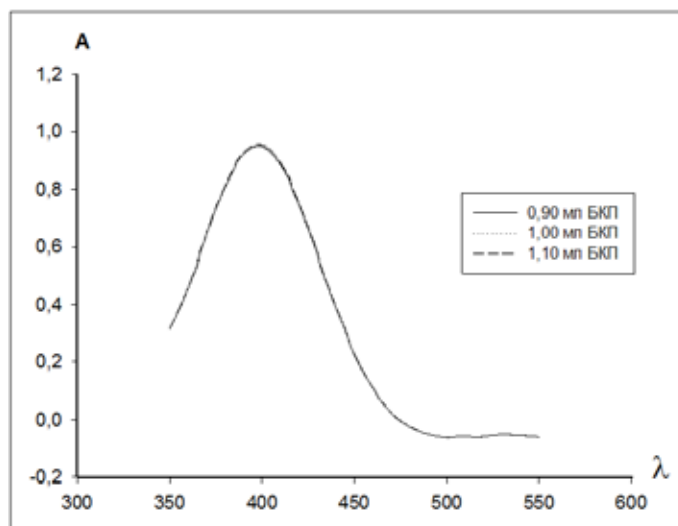


Рисунок 6 – Зависимость оптической плотности от длины волны при разных количествах реагента

ВЫВОДЫ

В результате работы установлено, что метопролола тартрат взаимодействует с БКП при комнатной температуре в среде ацетона, содержащего 2% воды. Изучаемая реакция является высокочувствительной: молярный коэффициент поглощения составляет $4,1 \cdot 10^4$.

Методом молярных отношений и методом непрерывных изменений установлено, что метопролол и БКП реагируют в соотношениях 1:1.

Разработана методика спектрофотометрического количественного определения метопролола тартрата в таблетках различных производителей.

Доказано, что разработанная методика по таким валидационным характеристикам, как линейность, прецизионность, правильность и робастность, валидна.

SUMMARY

Y.N. Zhuk, S.A. Vasjuk
SPECTROPHOTOMETRIC
DETERMINATION OF METOPROLOL
TARTRATE IN TABLETS

In this investigation a visible spectrophotometric method for the determination of metoprolol tartrate based on the absorbance of colored product of the reaction between metoprolol tartrate and bromocresol purple in acetone medium at 399 nm measurement was developed. The optimal conditions for the quantitative determination of metoprolol tartrate

in the content of pharmaceutical drugs were established. The stoichiometric relationship coefficients between metoprolol tartrate and bromocresol purple were determined. The validation of the worked out procedure on such validated characteristics as linearity, precision, accuracy and robustness was carried out.

Keywords: quantitation, spectrophotometric analysis, metoprolol tartrate, bromocresol purple.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский. – М., 2000. – Т. 1. – 540 с.; Т.2. – 606 с.
2. British Pharmacopoeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2000.
3. Development and Validation of HPTLC Method for Simultaneous Determination of Amlodipine Besylate and Metoprolol Succinate in Bulk and Tablets / P.S. Jain [et al.] // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2012. – Vol. 74, № 2. – P. 152–156.
4. Stability Indicating Reverse phase Liquid chromatographic Method for the Determination of Metoprolol succinate in Pharmaceutical Dosage Forms / Sainath Kalisetty [et al.] // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. – 2012. – Vol. 4, № 9. – P. 4420–4425.
5. Kalyan, L. Kunturkar. Development and validation of UV spectrophotometric method for determination of S (-) metoprolol succinate and clopidogrel bisulphate in bulk and tablet dosage form / Kalyan L. Kunturkar,

Hemant Kumar Jain // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol. 5, № 3. – P. 593–598.

6. Yilmaz, B. Determination of metoprolol in pharmaceutical preparations by zero-, first-, second- and third-order derivative spectrophotometric method / B. Yilmaz // International Journal of Pharma and Bio Sciences. – 2010. – Vol. 1, № 1. – P. 1–15.

7. Development and validation of the simultaneous UV spectrophotometric method for estimation of metoprolol succinate and olmesartan medoxomil in the tablet dosage form / Bindi N. Vora [et al.] // Original Research Article Pharmaceutical Methods. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 44–47.

8. UV-VIS Spectrophotometric assay of metoprolol. Method validation / Magdalena Badulescu [et al.] // Farmacia. – 2008. – Vol. LVI, № 4. – P. 363–370.

9. El-Ries, M.A. AAS and spectrophotometric determination of propranolol HCl and metoprolol tartrate / M.A. El-Ries, F.M. Abou Attia, S.A. Ibrahim // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2000. – Vol. 24, № 2. – P. 179–187.

10. Hesham Salem. Spectrophotometric determination of β -adrenergic blocking agents in pharmaceutical formulations / Hesham Salem // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2002. – Vol. 29, № 3. – P. 527–538.

11. Amina, A.S. Colorimetric determination of β -blockers in pharmaceutical formulations / A.S Amina, G.H Ragabb, H Salehb // Journal

of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 1347–1353.

12. Moreshwar N.Kulkarni. Development and validation of spectrophotometric method for determination of metoprolol succinate / Moreshwar N.Kulkarni, Rajeshwar V.Kshirsagar, Dinesh M.Sakarkar // International Journal of ChemTech Research. – 2009. – Vol. 1, № 4. – P. 1273–1277.

13. Cesme, M. Spectrophotometric Determination of Metoprolol Tartrate in Pharmaceutical Dosage Forms on Complex Formation with Cu(II) / M. Cesme, D. Tarinc, A. Golcu // American Journal of Chemistry. – 2011. – Vol. 1, № 1. – P. 9–15.

14. Булатов, М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа – 5-е изд. / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.

15. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Додовнення 2. – 2008. – 620 с.

Адрес для корреспонденции:

69035, Украина,
г. Запорожье, пр. Маяковского, 26,
Запорожский государственный
медицинский университет,
кафедра аналитической химии,
+38(099)9120885,
lebed_yuliya@i.ua,
Жук Ю.Н.

Поступила 06.12.2013 г.

С.Л. Федорук¹, Т.В. Трухачева¹, К.А. Фроленков¹, В.П. Хейдоров²

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМО- И ФОТОДЕСТРУКЦИИ ХЛОРИНА ЕБ И ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ФОТОЛОН

¹РУП «Белмедпрепараты» (Минск, Республика Беларусь)

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Проведена работа по изучению процессов фотодеструкции лекарственной фармацевтической субстанции хлорина еб как в лекарственной форме, так и в свободном виде. Показано, что предложенная хроматографическая методика позволяет не только разделить основные продукты деструкции, но также и идентифицировать их. Установлено, что под воздействием излучения УФ-диапазона процессы деструкции протекают активнее в лекарственном средстве Фотолон, чем в фармацевтической субстанции хлорина еб. Изучено поведение хлорина еб и лекарственного средства Фотолон под воздействием лазерного излучения красного оптического диапа-

зона. Исследованы процессы деструкции и идентифицированы основные продукты деструкции, которые могут предположительно образовываться в клетках при проведении фотодинамической терапии. Таким образом, результаты проведенных исследований выявляют основные механизмы деструкции хлорина еб как в свободном виде, так и в составе лекарственной формы, что в будущем может быть использовано для определения условий хранения лекарственного средства, а также для разработки новых фотосенсибилизаторов и их лекарственных форм.

Ключевые слова: фотосенсибилизатор, деструкция, хлорин еб.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время фотодинамическая терапия уже зарекомендовала себя как один из перспективных методов лечения онкологических заболеваний. В основе фотодинамической терапии лежит усиление цитотоксичности веществ, известных как фотосенсибилизаторы, под действием излучения оптического диапазона длин волн. К числу перспективных фотосенсибилизаторов относят хлорин еб [1-2]. На основе хлорина еб специалистами РУП «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь) разработано лекарственное средство Фотолон, которое представляет собой молекулярный комплекс хлорина еб и поливинилпирролидона (ПВП) [3-7]. При производстве субстанции хлорина еб образуется незначительное количество различных примесей порфириновой природы. Хлорин и его производные неустойчивы при воздействии излучения различных длин волн, а также даже при незначительном повышении температуры и при воздействии кислорода воздуха. Фотодинамическая терапия с помощью лекарственного средства Фотолон проводится при длинах волн 650-670 нм. До настоящего времени изучали только механизм образования синглетного кислорода и возможности фотосенсибилизирующей способности хлорина Еб и его производных. Однако об особенностях образования родственных соединений при различных видах излучений, а также при воздействии температуры известно немного [8-10]. По этой причине большой интерес представляет изучение поведения субстанции хлорина еб и лекарственного средства Фотолон под воздействием излучений ультрафиолетового и красного, а также термического диапазонов длин волн. Большинство примесей хлорина еб имеют максимумы поглощения при 402 ± 2 нм и 662 ± 2 нм. Поэтому спектрофотометрический метод анализа позволяет оценить только сумму примесей, но не со-

держание и изменение концентрации каждой из них. Исходя из этого для исследований процессов деструкции использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии на основе оптимизированной методики, предложенной ранее [11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В качестве объекта исследования использовали субстанцию хлорина еб и лекарственное средство Фотолон производства РУП «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь). Фотолон представляет собой молекулярный комплекс натриевой соли хлорина еб и медицинского поливинилпирролидона с молекулярной массой около 10000 Да в массовом соотношении 1:1. Фотолон производится в виде лиофилизированного порошка для инъекций дозировкой 25, 50 и 100 мг. В работе использована серия лекарственного средства с дозировкой 100 мг производства 2008 г. В качестве стандартного образца использован хлорин еб фирмы Frontier Scientific (США).

Метанол (Merck, Германия), ацетонитрил (Merck, Германия) и трифторуксусная кислота (AppliChem, Германия) были хроматографической степени чистоты.

Подготовка анализируемых образцов. С целью сравнительного исследования стандартного образца хлорина еб (который не растворяется в воде или изотоническом растворе) и лекарственного средства Фотолон образцы растворяли в метаноле с конечной концентрацией 50 мкг/мл и фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. При изучении влияния излучений красного диапазона исследуемые образцы лекарственного средства растворяли в изотоническом растворе, затем фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Оборудование. В работе использовали жидкостный хроматограф фирмы Waters (США), включающий насос Waters600 и

фотодиодную матрицу Waters2996. Длина волны детектирования – 407 нм. Для получения более полной информации регистрировали спектр в диапазоне от 350 до 700 нм.

Для разделения использовали хроматографическую колонку XTerra RP-18 150x4.0 mm с размером частиц 3 мкм

(Waters, США). Градиентное элюирование (таблица 1) проводили при $25 \pm 1^\circ\text{C}$ элюентами, включающими 0,1% раствор трифторуксусной кислоты - подвижная фаза А (ПФ А) и ацетонитрил - подвижная фаза В (ПФ В). Объем петли ручного инжектора 20 мкл [11].

Таблица 1 – Условия градиентного элюирования анализируемых соединений

Время, мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0-20	45->100	55->0
20-23	100	0
23-24	100->45	0->55
24-28	45	55

Фотодеструкцию стандартного образца хлорина еб и лекарственного средства Фотолон проводили при длине волны 254 нм и под воздействием красного света при длине волны 660 нм.

Для изучения фотодеструкции при 254 нм использовали универсальный прибор для УФ-Вид. 254/366 облучения (Desaga, Германия).

Для изучения фотодеструкции под воздействием красного света использовали полупроводниковый лазер PLM-660-0.5 с мощностью 130 мВт. Сфокусированное лазерное пятно имело диаметр 1 см.

Расчет содержания примесей производили методом внутренней нормализации. Идентификацию сопутствующих примесей проводили путем сравнения времен удерживания пиков на хроматограммах испытуемых растворов с временами удерживания пиков соответствующих примесей на хроматограммах растворов сравнения, а также сравнением спектров поглощения веществ, экстрагированных из пиков на соответствующих хроматограммах. Анализировали растворы сравнения следующих примесей: примесь 3 – хлорин е4; примесь 4 - 15¹-гидроксифилохлорин; примесь 6 – 15¹-гидроксиметилродохлорин δ-лактон; примесь 7 – родохлорин-15-оксиметил δ-лактон); примесь 9 – 15¹-гидроксиметилродопорфирин δ-лактон.

При фотодеструкции под воздействием УФ-излучения время воздействия составляло 5, 10, 20, 40 и 60 минут, под воздействием красного света – 5, 10, 15 и 20 минут.

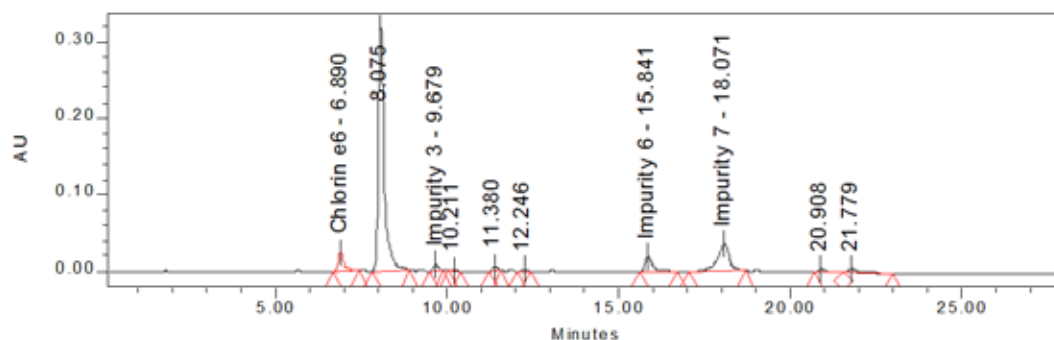
Сравнительное изучение термического воздействия на субстанцию хлорин еб и лекарственное средство Фотолон проводили

в стеклянных флаконах фирмы Stolzle-Oberglas GmbH (Австрия) (II гидролитического класса стекла) на водяной бане при температуре 80°C. Концентрация хлорина еб в исследуемых растворах также составляла 50 мкг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализов были получены хроматограммы (рис. 1-2) и спектры, при интегрировании которых была получена информация о росте идентифицированных и неидентифицированных примесей.

Отмечены заметные изменения устойчивости хлорина еб в стрессовых условиях. Выявлено, что стабильность в данных условиях у лекарственного средства Фотолон ниже, чем у субстанции хлорина еб. При анализе приведенных в таблицах данных о содержании различных примесей в образцах отмечены следующие закономерности (таблицы 2 и 3). Во-первых, как для субстанции хлорин еб, так и для лекарственного средства Фотолон наблюдается рост содержания примеси с временем удерживания 8,3 мин, которую в настоящее время еще не удалось идентифицировать. Для лекарственного средства Фотолон рост содержания данной примеси прекращается после 40 минут воздействия УФ-излучения. После 40 минут воздействия в растворе лекарственного средства Фотолон наблюдается также образование примеси 3, которая, как правило, образуется при термическом воздействии. Также было отмечено образование примесей 6 и 7 как в растворе субстанции хлорина еб, так и в растворе лекарственного средства Фотолон.



По оси абсцисс – время t , мин, по оси ординат – отклик прибора в относительных единицах интегрирования, который прямо пропорционален концентрации хлорина е6 и родственных соединений в анализируемом растворе

Рисунок 1 - Хроматограмма раствора лекарственного средства Фотолон после стрессового воздействия УФ-излучения на протяжении 60 минут.

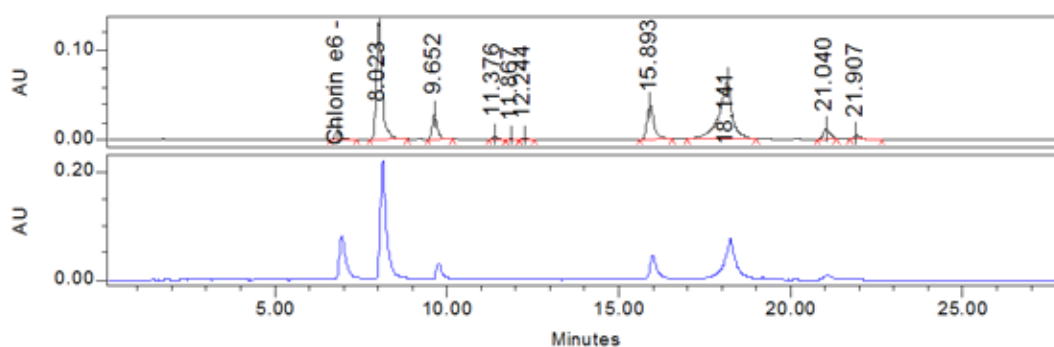


Рисунок 2 – Сравнение хроматограмм лекарственного средства Фотолон (верхняя) и субстанции хлорина е6 (нижняя) после воздействия УФ-излучения на протяжении 120 минут

Таблица 2 – Изменение содержания примесей в ходе деструкции лекарственного средства Фотолон при воздействии УФ-излучения с длиной волны 254 нм.

T_R – время удерживания примеси

Примесь	Содержание примесей, %					
	Продолжительность облучения, мин					
	0	10	20	40	60	120
Неидентифицированная ($T_R=4,4$ мин)	0,25	0	0	0	0	0
Неидентифицированная ($T_R=8,3$ мин)	0,34	12,43	36,08	78,03	67,19	33,35
Примесь 4 ($T_R=9,3$ мин)	0,42	0,36	0	0	0	0
Примесь 3 ($T_R=9,7$ мин)	0	0	0	0,68	1,64	6,67
Неидентифицированная ($T_R=10,0$ мин)	1,06	1,54	1,2	0,31	0,34	0
Неидентифицированная ($T_R=11,4$ мин)	0,58	0,26	0,78	1,42	1,08	1,16
Неидентифицированная ($T_R=11,9$ мин)	0	0	0	0,15	0	0,26
Неидентифицированная ($T_R=12,3$ мин)	0	0,46	0,89	0,42	0,42	0,51
Неидентифицированная ($T_R=13,1$ мин)	0,2	0	0	0,18	0	0
Примесь 6 ($T_R=15,9$ мин)	0,54	0,54	0,87	2,33	5,39	12,49
Примесь 7 ($T_R=18,2$ мин)	0,59	0,96	1,85	7,11	15,67	37,57
Примесь 9 ($T_R=19,1$ мин)	0,21	0	0	0	0	0
Неидентифицированная ($T_R=21,1$ мин)	0,32	0,24	0,3	0,43	1,37	3,3
Неидентифицированная ($T_R=21,9$ мин)	0,6	0,63	0,92	1,13	1,61	1,61

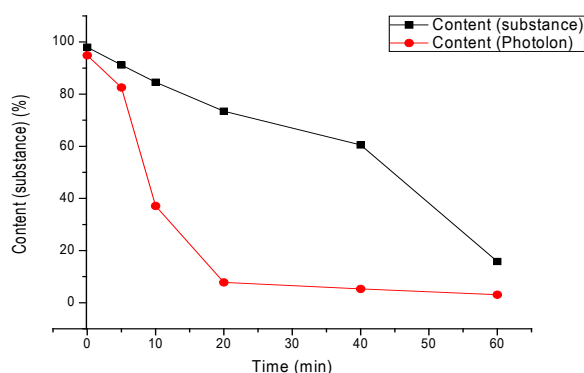
Таблица 3 – Результаты исследования деструкции субстанции хлорина еб при воздействии УФ-излучения с длиной волны 254 нм

Примесь	Содержание примесей, %					
	Продолжительность облучения, мин					
	0	10	20	40	60	120
Неидентифицированная ($T_R=3,3$ мин)	0	0,08	0	0	0	0
Неидентифицированная ($T_R=8,3$ мин)	0,27	6,22	12,48	22,75	29,62	40,83
Примесь 4 ($T_R=9,3$ мин)	0,15	0,18	0,08	0,11	0	0
Неидентифицированная ($T_R=10,0$ мин)	0	0	0	0,1	0,42	4,72
Неидентифицированная ($T_R=12,3$ мин)	0,34	0,41	0,33	0,47	0,38	0,55
Неидентифицированная ($T_R=13,9$ мин)	0	0	0	0	0	0,15
Примесь 6 ($T_R=15,9$ мин)	0,19	0,44	0,55	0,82	2	10,11
Примесь 7 ($T_R=18,2$ мин)	0,96	1,44	1,95	2,24	6,74	26,12
Примесь 9 ($T_R=19,1$ мин)	0,07	0	0	0	0	0
Неидентифицированная ($T_R=21,1$ мин)	0	0	0	0	0,3	1,78

Анализируя зависимости содержания хлорина еб от продолжительности воздействия УФ-излучения (рис. 3), можно сделать следующие выводы. Процесс деструкции в лекарственном средстве Фотолон на начальном этапе протекает значительно быстрее, однако по истечении часа величины относительного содержания хлорина еб остаются примерно на одном уровне.

При изучении фотодеструкции под воздействием красного света было обнаружено, что в целом субстанция хлорина еб является более устойчивой к действию красного света, чем лекарственное средство Фотолон (рис. 4). На начальных этапах растет содержание примеси с относительным временем

удерживания 1,2 по отношению к времени удерживания хлорина еб как в случае стандартного образца, так и в случае лекарственного средства Фотолон, но к 20-ой минуте содержание этой примеси стремительно уменьшается (таблица 4). Был замечен рост примесей 6 и 7 в лекарственном средстве Фотолон (после 15-ой минуты содержание примеси 7 остается постоянным). Также был отмечен рост неидентифицированной примеси с временем удерживания 22,9 минуты. В субстанции хлорина еб отмечен рост содержания только примеси 7. Увеличения содержания примеси 3 не происходит. Исходя из вышеуказанных наблюдений, можно сделать некоторые выводы. Лучшая



«Content (substance)» – относительное содержание субстанции хлорина еб;
«Content (Photolon)» – относительное содержание лекарственного средства Фотолон.
Рисунок 3 – Зависимость относительного содержания хлорина еб (%) в субстанции хлорина еб и в лекарственном средстве Фотолон от времени воздействия УФ-излучения

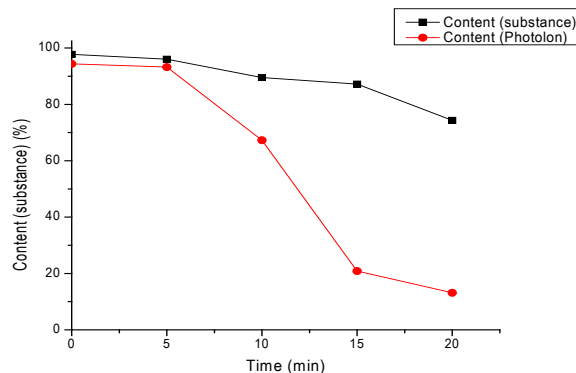


Рисунок 4 – Зависимость содержания хлорина еб в стандартном образце хлорина еб и в лекарственном средстве Фотолон от времени при воздействии красного света мощностью 130 мВт

Таблица 4 – Результаты исследования деструкции лекарственного средства Фотолон при воздействии красного света мощностью 130 мВт

Примесь	Содержание примесей, %				
	Продолжительность облучения, мин				
	0	5	10	15	20
Неидентифицированная ($T_R=5,1$ мин)	0,23	0,25	0,17	0	0
Неидентифицированная ($T_R=9,1$ мин)	0	0,57	15,02	16,1	4,18
Неидентифицированная ($T_R=10,0$ мин)	0,47	0,4	0,5	0,41	0
Примесь 4 ($T_R=10,5$ мин)	1,95	0,85	0,48	1,26	2,45
Неидентифицированная ($T_R=10,9$ мин)	0	0	1,96	0,34	0
Неидентифицированная ($T_R=12,4$ мин)	0	0	0,3	0,44	0,52
Неидентифицированная ($T_R=12,6$ мин)	0	0	0	0,16	0
Неидентифицированная ($T_R=13,1$ мин)	0,49	0,6	0,65	1,41	1,42
Неидентифицированная ($T_R=13,8$ мин)	0	0,14	0,19	0,4	0
Неидентифицированная ($T_R=15,7$ мин)	0	0	0	0,13	0
Неидентифицированная ($T_R=16,4$ мин)	0,29	0	0	0	0
Примесь 6 ($T_R=16,8$ мин)	0,64	1,13	6	32,91	47,75
Примесь 7 ($T_R=19,1$ мин)	0,62	1,81	6,1	20,01	19,88
Примесь 9 ($T_R=20,1$ мин)	0,12	0	0	0,58	0,36
Неидентифицированная ($T_R=20,8$ мин)	0	0	0	0,36	0,69
Неидентифицированная ($T_R=22,0$ мин)	0,16	0	0,35	2,52	4,78
Неидентифицированная ($T_R=22,8$ мин)	0,64	1,00	0,99	2,08	4,8

эффективность лекарственного средства Фотолон может быть основана не только на лучшей солюбилизирующей способности, но и на совместном действии хлорина еб и некоторых его родственных примесей. Поэтому весьма перспективным является синтез идентифицированных примесей 6 и 7 (15¹-гидрокси метил родохлорин δ-лактон и родохлорин-15-оксиметил δ-лактон) в достаточном объёме с последующими испытаниями на эффективность фотодинамической терапии. Также целесообразно провести работу по идентификации примесей с относительными временами удерживания 1,2 и 3,1 по отношению ко времени удерживания хлорина еб с использованием метода хромато-масс-спектрометрии.

При исследовании термической деструкции замечены следующие изменения (рис. 5). В лекарственном средстве Фотолон: наблюдается уменьшение содержания хлорина еб на 5,21%; а в субстанции хлорина еб – на 4,74%. Очевидно, что стабильность хлорина еб в лекарственном средстве Фотолон сопоставима со стабильностью субстанции.

При изучении термостабильности субстанции хлорин еб отмечен рост содержа-

ния примеси 3 (хлорина е4) с 0 до 1,48%. Это подтверждает образование данной примеси через реакцию декарбоксилирования при повышении температуры согласно схеме (рис. 6), предложенной ранее [11].

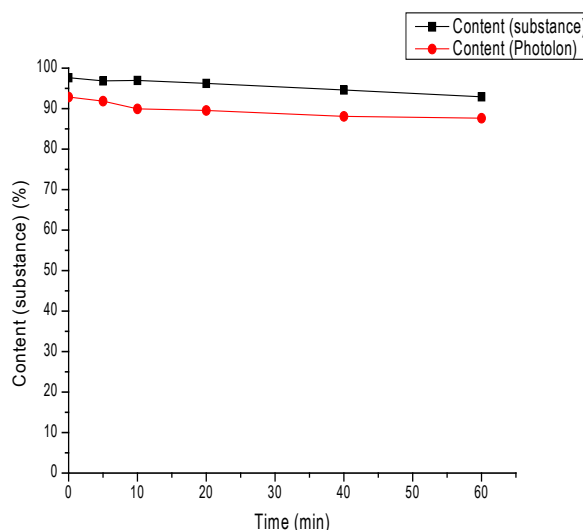


Рисунок 5 – Зависимость содержания хлорина еб в лекарственном средстве Фотолон и в субстанции хлорина еб от времени при стрессовом воздействии температуры 80°C

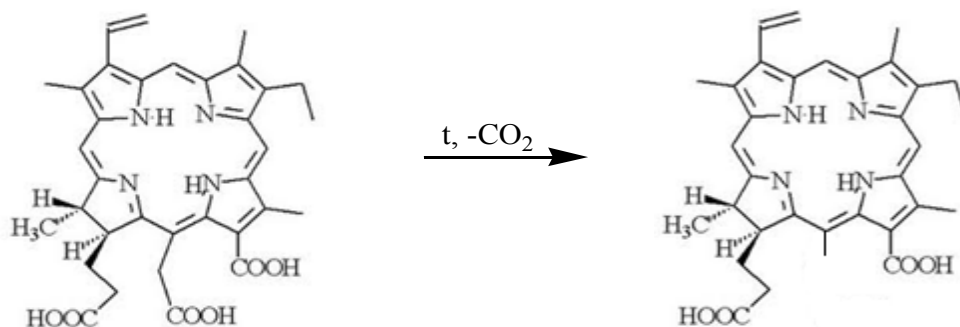


Рисунок 6 – Схема реакции образования хлорина е4 из хлорина е6 при термическом воздействии

В целом в результате исследований подтверждено ускорение процессов деструкции хлорина е6 при увеличении температуры до 80°C.

Признательность. Коллектив авторов выражает благодарность физическому факультету БГУ и лично Зориным Владимиру Петровичу и Татьяне Евгеньевне за любезно предоставленный полупроводниковый лазер ИЛМ-660-0.5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При воздействии излучения света красного и УФ-диапазонов фотодеструкция хлорина е6 в растворе лекарственного средства Фотолон протекает быстрее, чем в растворе чистого хлорина е6. Это может свидетельствовать о механизме действия данной фармацевтической субстанции в раковых клетках при проведении фотодинамической терапии.

2. Идентифицирована часть примесей (15¹-гидроксиметилродохлорин δ-лактон и родохлорин-15-оксиметил δ-лактон), содержание которых при воздействии красного света существенно возрастает. Это может быть использовано для изучения как терапевтических, так и токсических эффектов при фотодинамической терапии лекарственными средствами на основе хлорина е6.

3. Исследования по изучению термического воздействия показали, что при повышении температуры до 80°C активно происходят процессы деструкции хлорина е6. Установлено увеличение содержания примеси 3, идентифицированной как хлорин е4.

SUMMARY

S.L. Fiedaruk, T.V. Trukhacheva,
K.A. Fralenkou, V.P. Kheidorov
INVESTIGATION OF THERMO-
AND PHOTODESTRUCTION OF
CHLORIN E6 AND MEDICINE PHOTOLON

It was carried out the work for studying of processes of photodestruction of pharmaceutical substance chlorin e6 in dosage form and in free state. It was showed, that chromatographic method lets to separate main products of destruction as well to identify them by the method of external standard and by the comparing of absorption spectrums. The process of destruction of chlorin e6 under UV-irradiation was remarked to be more active in dosage form Photolon, than in free state. The investigation of behaviour of chlorin e6 and dosage form Photolon under red range irradiation has revealed not only the kinetics of destruction, but also main products of destruction, that can be formed hypothetically in cancer cells during photodynamic therapy. The addition of ascorbic acid made for clearing up the mechanism of destruction gives also background for development of new dosage forms with durable action. Thus the results of carried out investigations reveal the main mechanisms of destruction of chlorin e6 not only in free state, but also in the composition of dosage form, that in future can be used for determination of storage conditions of medicine, and also for development of new dosage forms with durable action.

Keywords: photosensitiser, destruction, chlorin e6.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ragulin, Y.A. Photodynamic therapy with chlorine photosensitizers on the central lung cancer / Y.A. Ragulin, M.A. Kaplan,

V.N. Medvedev // J. Thoracic Oncology – 2007. – Vol. 2 (8) – P. 622-623

2. Spikes, J.D. New trends in photobiology (Invited review) chlorines as photosensitizers in biology and medicine / J.D. Spikes // J. of Photochemistry and Photobiology, B: Biology.- 1990. – Vol. 6. – P.259-274.

3. Immediate and long-term efficacy and safety of photodynamic therapy with Photolon® (Fotolon®) – a seven-year clinical experience / Y.P. Istomin [et al.] // Proc. Of SPIE. – 2009. – Vol. 7380. – P. 6V1-8.

4. Laptsevich, T.P. Photodynamic therapy of women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia using Photolon® / T.P. Laptsevich, V.N. Chalau, T.V. Trukhachova, P.T. Petrov, Y.P. Istomin // J. Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2008 – Vol. 5 (suppl. 1). – P. S5-S6.

5. Fedulov, A.S. Photodynamic therapy of high-grade gliomas with Photolon® (Fotolon®). Results of the open-label randomized clinical trial / A.S. Fedulov, I.I. Sakovich, S.V. Sliakhtsin, T.V. Trukhachova // J. Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2008. – Vol. 5 (suppl. 1). – P.7.

6. Jeromin, L. Photodynamic therapy of bladder tumors with new photosensitizer Photolon: pilot study / L. Jeromin, C. Peszynski-Drews, M. Lipinski // Acta Bioopt. Inform. Med. – 2004. – Vol. 10. – P. 10-14.

7. Shlyakhtin, S.V. Application of the method of measurement of fluorescence intensity *in vivo* in biological tissues for phar-

macokinetic studies of different chlorin-based photosensitizers / S.V. Shlyakhtin, T.V. Trukhacheva, G.A. Isakov, Yu.P. Istomin // Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2010. - Vol.4 (2). – P. 184-190.

8. Yang, H. Photobleaching of chlorins in homogeneous and heterogeneous media / H. Yang, F. Wang, Zh. Zhang // Dyes and Pigments. – 1999. – Vol. 43. – P. 109-117.

9. Yang, Y.T. Photodynamic inactivation of chlorin e6-loaded CTAB-liposomes against *Candida albicans* / Y.T. Yang [et al.] // Lasers Surg Med. – 2013. – Vol.45(3). – P.175-85.

10. Chekulayeva, L.V. Influence of temperature on the efficiency of photodestruction of Ehrlich ascites carcinoma cells sensitized by hematoporphyrin derivative / L.V. Chekulayeva, I.N. Shevchuk, V.A. Chekulayev // Exp. Oncol. – 2004. – Vol. 26(2). – P.125-39.

11. Isakau, H.A. Isolation and identification of impurities in chlorin e6 / H.A. Isakau, T.V. Trukhacheva, P.T. Petrov // J. of Ph. and Biomed. Analysis. – 2007. – V.45. – P.20-29.

Адрес для корреспонденции:

220007, Республика Беларусь,
г.Минск, ул. Фабрициуса, 30,
РУП «Белмедпрепараты»
тел./факс 8 (017) 380 00 36
e-mail: lab659@yandex.ru
or nfc@belmedpreparaty.com
Федорук С.Л.

Поступила 08.04.2014 г.

С.Л. Федорук¹, Т.В. Трухачева¹, К.А. Фроленков¹, В.П. Хейдоров²

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЭКСКЛЮЗИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ ФОТОЛОН

¹РУП «Белмедпрепараты» (Минск, Республика Беларусь)

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Методом эксклюзионной хроматографии проанализированы образцы поливинилпирролидона с различными молекулярными массами. Предлагается подход, не требующий построения градуировочного графика для оценки молекулярной массы поливинилпирролидона при контроле качества лекарственного средства Фотолон, для которого достаточно сравнения времен удерживания испытуемого образца поливинилпирролидона с поливинилпирролидоном, используемым в качестве стандарта. С помощью различных экспериментальных образцов лекарственного средства Фотолон на основе тринатриевой соли хлорина еб и поливинилпирролидона различных молекулярных масс дополнительно доказано существование молекулярного комплекса хлорина еб и поливинилпирролидона.

Ключевые слова: *эксклюзионная хроматография, поливинилпирролидон, молекулярная масса.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема лечения онкологических заболеваний в Республике Беларусь является очень острой. Традиционные методы лечения заболеваний онкологического профиля не позволяют в полной мере достигнуть всех необходимых результатов. Поэтому в последнее время специалисты различных областей все чаще прибегают к методам фотодинамической терапии, которые по сравнению с общепринятыми методами лечения обладают целым рядом преимуществ, таких как избирательность поражения, отсутствие риска хирургического вмешательства и тяжелых системных осложнений, допустимость многократного повторения, низкая стоимость и многое другое [1]. Разработанное на РУП «Белмедпрепараты» лекарственное средство Фотолон представляет собой молекулярный комплекс хлорина еб и поливинилпирролидона (ПВП). Лекарственное средство уже зарекомендовало себя как эффективное лекарственное средство при лечении не только некоторых онкологических заболеваний, но также заболеваний глаз и других органов [2–4]. При этом контролю качества лекарственного средства уделяется огромное внимание. Разработанные ранее методики совершенствуются и валидируются, разрабатываются новые методики [5–6]. Актуальным является вопрос стандартизации качества поливинилпирролидона. В фармакопеях имеются некоторые расхождения по стандартизируемым параметрам (таблица 1) [7–10]. Молекулярная масса стандартизируется по К-значению вязкости. В то же время согласно международным требованиям для парентеральных лекарственных форм рекомендовано применение поливинилпирролидона с молекулярной массой, не превышающей 10 кДа. В связи с этим важным является постоянный мониторинг молекулярной массы поливинилпирролидона, который входит в состав лекарственного средства Фотолон.

Таким образом, целью данной работы является оптимизация методики определения молекулярной массы ПВП в лекарственном средстве Фотолон.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. Исследовали образцы

поливинилпирролидона различных производителей с молекулярными массами около 10 тыс дальтон: поливинилпирролидон низкомолекулярный медицинский 12600±2700 (повидон) производства ООО «АК Синтвитта» (Российская Федерация) (далее – ПВП 12600±2700); поливинилпирролидон низкомолекулярный медицинский 12600±2700 производства ООО «АК Синтвитта» (Российская Федерация), фракционированный согласно методике, предложенной РУП «Белмедпрепараты» (далее – ПВП фракционированный); Пласдон С12 и Пласдон К17 производства ISP AG (Швейцария). Отдельно анализировали экспериментальные образцы Фотолона на основе тринатриевой соли хлорина еб с ПВП различных производителей с различными молекулярными массами: ПВП 12600±2700, ПВП фракционированный, Пласдон С15. Также для анализа использовали образцы пуллулана серии Р-82 (фирмы «Shodex»), с молекулярными массами 100000, 50000, 20000, 10000, 5000.

В работе использовали пропанол-1 (Merck, Германия) и кислоту трифторуксусную (AppliChem, Германия), реактивы были хроматографической степени чистоты. Натрия нитрат (Merck, Германия) и натрия азид (Merck, Германия) были степени чистоты – чистый для анализа.

Подготовка анализируемых образцов. Образцы поливинилпирролидона и лекарственного средства Фотолон растворяли в подвижной фазе с получением растворов с концентрацией поливинилпирролидона 0,1 мг/мл.

Для определения молекулярной массы свободного поливинилпирролидона в лекарственном средстве Фотолон использовали методику, предложенную ранее [10]. Согласно этой методике, после титрования раствора Фотолона разбавленной хлористоводородной кислотой до рН 3,2 образующийся осадок фильтровали на фильтре «синяя лента», а фильтрат, содержащий поливинилпирролидон, анализировали методом эксклюзионной хроматографии.

Оборудование. В работе использован жидкостный хроматограф фирмы Waters (США), включающий насос Waters 600, фотодиодную матрицу Waters 2996 и рефрактометрический детектор Waters 410.

Таблица 1 – Показатели качества поливинилпирролидона согласно различным фармакопеям

Показатель	ГФ РБ 2 том, 2008	Амер. Фармакопея (USP 34 – NF 29, 2011)	Брит. Фармакопея (BP 2013)
Подлинность	ИК-спектр, качественные реакции с дихроматом калия, с диметиламинобензальдегидом, с йодом, растворимость в воде	Качественные реакции с дихроматом калия, с аммония тиоцианатом, с йодом.	ИК-спектр, качественные реакции с дихроматом калия, с диметиламинобензальдегидом, с йодом, растворимость в воде
Прозрачность	Должен быть прозрачным	Не стандартизируется	Стандартизируется
Цветность	Не интенсивнее $B(K)_6$, $BY(K)_6$, $R(K)_6$	Не стандартизируется	Не интенсивнее $B(K)_6$, $BY(K)_6$, $R(K)_6$
pH	К-знач. до 30: 3,0-5,0 К-знач. с 30: 4,0-7,0	От 3 до 7	К-знач. до 30: 3,0-5,0 К-знач. с 30: 4,0-7,0
Вязкость (К-знач.)	Стандартизируется	Стандартизируется	Стандартизируется
Альдегиды	Не более 0,05% (500 ppm)	Не более 0,05% (500 ppm)	Не более 0,05% (500 ppm)
Пероксиды	Не более 0,04% (400 ppm)	Не стандартизируется	Не более 0,04% (400 ppm)
Гидразин	Не более 0,0001% (1ppm)	Не стандартизируется	Не более 0,0001% (1ppm)
Примесь А	Не более 0,001% (10 ppm)	Не более 0,001% (10 ppm)	Не более 0,001% (10 ppm)
Примесь В	Не более 3,0%	Не стандартизируется	Не более 3,0%
Тяжелые металлы	Не более 0,001% (10 ppm)	Свинец – не более 10 ppm	Не более 0,001% (10 ppm)
Вода	Не более 5,0%	Не более 5,0%	Не более 5,0%
Сульфатная зола	Не более 0,1%	Не более 0,1% (зола)	Не более 0,1%
Остаточные органические растворители	Должен выдерживать требования статьи 5.4 ГФ РБ II 1 том, 2012	Не стандартизируется	Не стандартизируется
Микробиологическая чистота	Не обладает антимикробным действием	Не стандартизируется	Не стандартизируется
Количественное содержание	Стандартизируется по содержанию азота	Стандартизируется по содержанию азота	Стандартизируется по содержанию азота

Использовали хроматографическую колонку KB803M (марки Shodex), заполненную полигидроксиметакрилатным гелем, размерами 300x8 мм. В качестве подвижной фазы применяли 0,1 М водный раствор натрия нитрата [11]. Скорость подвижной фазы составляла 0,7 мл/мин, температура хроматографической колонки – 25°C. Объем петли ручного инжектора 20 мкл.

Среднюю молекулярную массу поливинилпирролидона рассчитывали с помощью GPC-опции программного обеспечения «Millenium» (фирмы Waters) по универсальному градуировочному графиче-

ску, принимая коэффициенты уравнения Марка-Куна-Хаувинка для поливинилпирролидона фирмы «Синтвитта» $K=1,4 \cdot 10^{-4}$ и $\alpha=0,7$ [12]. Из кривой элюирования рассчитывали среднюю молекулярную массу. Результаты анализа считали достоверными, если выполнялись требования пригодности хроматографической системы. Хроматографическая система считалась пригодной, если относительное стандартное отклонение, рассчитанное для времени выхода пика стандарта пуллулана, было не более 1,0%, а молекулярно-массовые характеристики (M_w , M_n , M_w/M_n) стандарт-

ного образца пуллулана с молекулярной массой 50000 не отличались от приведенных в паспорте более чем на 5%.

Для построения универсального градуировочного графика по 0,025 г стандартных образцов пуллулана серии P-82 (фирмы Shodex) помещали в мерные колбы вместимостью 25,0 мл, растворяли в 15 мл подвижной фазы, доводили объемы растворов тем же растворителем до метки и перемешивали.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перед хроматографированием испытуемых образцов производили проверку пригодности хроматографической системы. Рассчитанные из полученных хроматограмм молекулярно-массовые характеристики пуллулана с молекулярной массой 50000 не отличались от приведенных в паспорте более чем на 5% (таблица 2), а относительное

стандартное отклонение, рассчитанное для времени выхода пика стандарта пуллулана P-50, составляло менее 1,0% (0,72%).

В результате анализа была получена кривая элюирования, из которой была определена средняя молекулярная масса поливинилпирролидона низкомолекулярного медицинского 12600±2700 фирмы «Синтвитта», равная 10946. Среднюю молекулярную массу поливинилпирролидона на основе полученной хроматограммы (рисунок 1) рассчитывали по универсальному градуировочному графику. Аналогично были рассчитаны молекулярные массы поливинилпирролидона в образцах фракционированного поливинилпирролидона и Пласдона K17. Результаты приведены в таблице 3.

Согласно второму подходу определения молекулярной массы сравнивали времена удерживания поливинилпирролидона на хроматограммах растворов образцов. Исходя из данного сравнения, делали со-

Таблица 2 – Молекулярно-массовые характеристики пуллулана P-50 (M_w , M_n , M_w/M_n), рассчитанные из хроматограмм и указанные в паспорте

Образец	Характеристика, рассчитанная из хроматограммы	Характеристика, указанная в паспорте
M_n	44900	44000
M_w	49100	48000
M_w/M_n	1,09	1,09

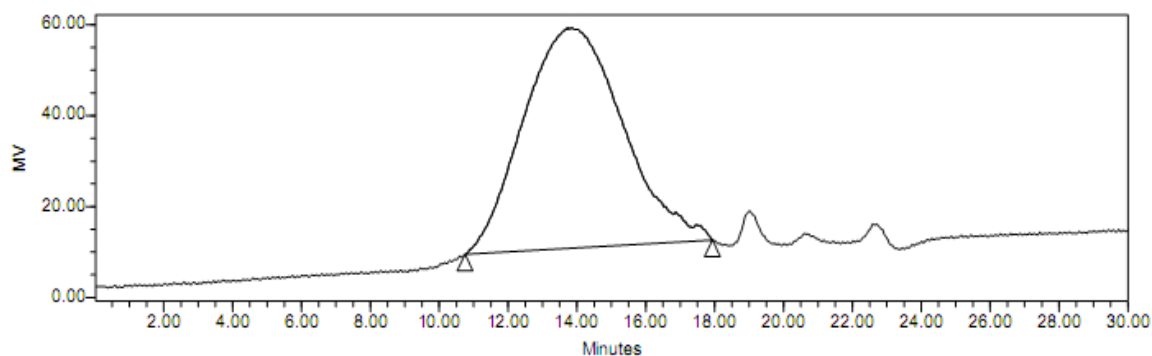


Рисунок 1 – Хроматограмма образца поливинилпирролидона низкомолекулярного медицинского 12600±2700 фирмы «Синтвитта». Среднемассовая молекулярная масса (M_w) – 10946

Таблица 3 – Результаты анализа образцов поливинилпирролидона различных производителей

Образец ПВП	Время удерживания, мин	Среднемассовая молекулярная масса (M_w), рассчитанная из хроматограмм
Синтвитта 12600±2700	13,73	11000
Синтвитта фракционированный	14,85	4000
ISP C12 ($M_w \leq 4000$ по паспорту производителя)	15,79	2400
ISP K17 ($M_w \leq 10000$ по паспорту производителя)	14,40	8000

ответствующие выводы. Ниже приведены хроматограммы ПВП фракционированного с временем удерживания пика поливинилпирролидона, равным 14,85, и образца Пласдона К17 с временем удерживания пика поливинилпирролидона, равным 14,40 (рисунок 2). На основании сравнения времен удерживания можно сделать

вывод, что образец ПВП фракционированного обладает средней молекулярной массой не более 10000, так как на хроматограмме этого образца время удерживания пика поливинилпирролидона больше, чем на хроматограмме образца Пласдона К17, в паспорте для которого указана молекулярная масса, не превышающая 10000.

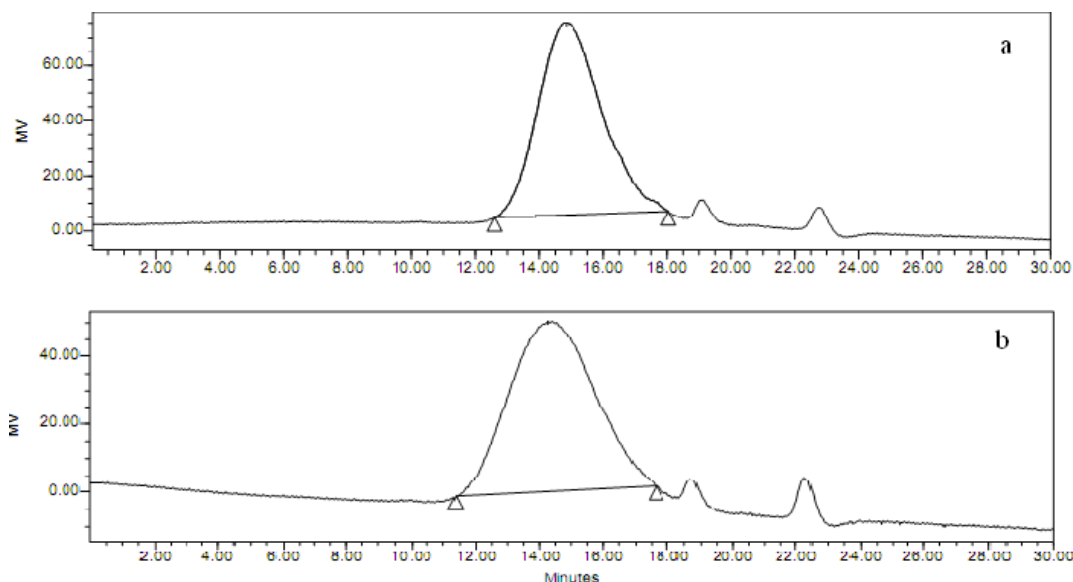


Рисунок 2 – Сравнение хроматограмм образца фракционированного поливинилпирролидона (а) и Пласдона К17 (б)

Расчет молекулярной массы поливинилпирролидона по данной методике использовали также для подтверждения комплексообразования между молекулами хлорина еб и поливинилпирролидона в различных экспериментальных образцах Фотолон на основе ПВП различных молекулярных масс и различных производителей. Данное исследование подтверждает предположение о том, что формирование

комплекса фотосенсибилизатора с высокомолекулярной фракцией полимера приводит к устойчивым ассоциатам [11], потому что изменение молекулярной массы поливинилпирролидона после осаждения характерно для всех образцов ПВП (рисунки 3 и 4, таблица 4). Данный факт указывает на то, что хлорин еб может образовывать молекулярные комплексы с поливинилпирролидом независимо от их молекулярной массы.

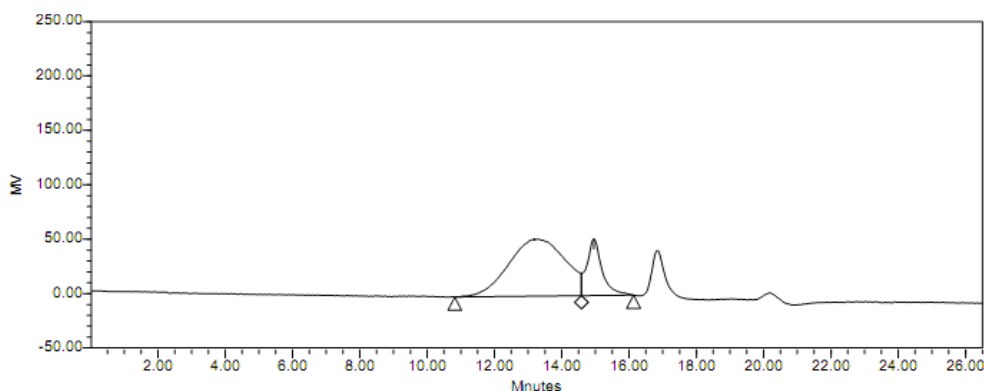


Рисунок 3 – Хроматограмма испытуемого раствора поливинилпирролидона фракционированного в экспериментальном образце лекарственного средства Фотолон

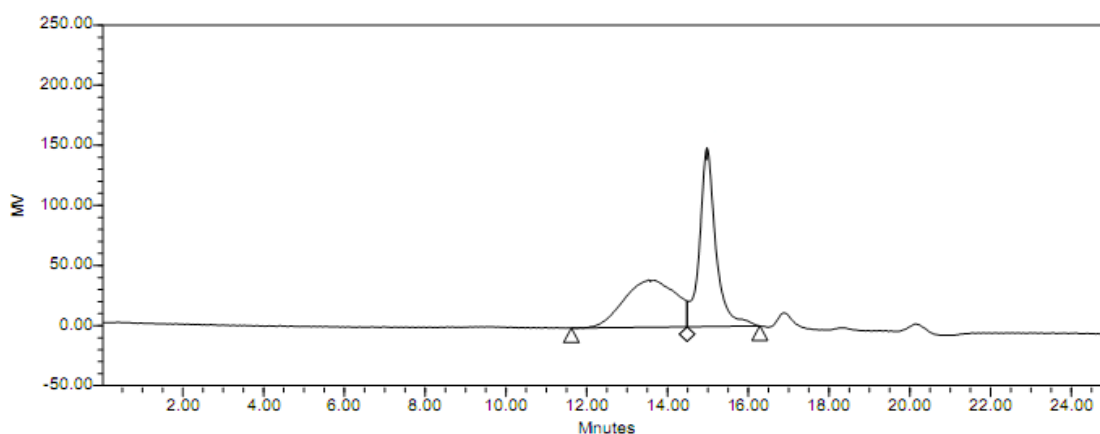


Рисунок 4 – Хроматограмма испытуемого раствора поливинилпирролидона фракционированного, полученного после осаждения хлорина еб из экспериментального образца Фотолон

Таблица 4 – Результаты изучения молекулярно-массового распределения поливинилпирролидона в различных экспериментальных образцах Фотолон до и после осаждения хлорина еб

Образец	Среднемассовая молекулярная масса (M_w) в растворе экспериментального образца Фотолон	Среднемассовая молекулярная масса (M_w) в растворе экспериментального образца Фотолон после осаждения хлорина еб
ПВП 12600±2700	12484	5500
ПВП фракционированный	3607	2249
Пласдон С15	4880	4803

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведено сравнение двух подходов для определения молекулярных масс поливинилпирролидона как в свободном виде, так и в составе лекарственного средства Фотолон. Первый подход основан на сравнении рассчитанных молекулярных масс высокомолекулярного соединения исходя из хроматограмм, полученных при анализе методом эксклюзионной хроматографии. Второй подход основан на сравнении времен удерживания пиков, соответствующих поливинилпирролидону, на соответствующих хроматограммах. Сравнение обоих подходов определения молекулярной массы поливинилпирролидона показало их хорошую взаимозаменяемость при определении молекулярной массы поливинилпирролидона.

2. Показано, что хлорин еб может образовывать молекулярные комплексы с различными образцами поливинилпирролидона независимо от их молекулярной массы.

SUMMARY

S.L. Fiedaruk, T.V. Trukhacheva,
K.A. Fralenkou, V.P. Kheidorov
DEVELOPMENT AND APPLICATION
OF NEW METHODS OF ANALYSE
OF POLYVINYLPIRROLIDONE
FOR THE QUALITY ASSURANCE
OF DRUG PHOTOLON

The article is devoted to the comparison of two approaches for the determination of molecular mass of polyvinylpyrrolidone not only in free state, but also in the composition of dosage form of medicine named Photolon. The first approach deals with classical calculation of the molecular mass of polymer on the basis of graduation graph. The second approach uses the comparison of the retention times of the investigated sample and the sample that is used as reference standard with passport data. It was also proved, that in Photolon exists complex of chlorin e6 with polyvinylpyrrolidone by the comparison of molecular mass of polyvinylpyrrolidone in Photolon with the same after precipitation of chlorin.

Keywords: size-exclusion chromatography, polyvinylpyrrolidone, molecular mass.

ЛИТЕРАТУРА

1. Spikes, J.D. New trends in photobiology (Invited review) chlorines as photosensitizers in biology and medicine/ J.D. Spikes // *J. of Photochemistry and Photobiology*, В: *Biolog.* – 1990. – V.6. – P. 259–274.

2. Immediate and long-term efficacy and safety of photodynamic therapy with Photolon® (Fotolon®) – a seven-year clinical experience / Y.P. Istomin [et al.] // *Proc. of SPIE.* – 2009. – Vol. 7380. – P. 6V1–8.

3. Первый опыт клинического применения фотодинамической терапии в лечении васкуляризированных бельм роговицы / Ю.А. Белый [и др.] // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2007. – Т. 6, №1. – С.10.

4. Photolon an agent for photodynamic diagnosis and therapy: non-clinical and clinical experience/ P. Petrov [et al.] // *Acta Bioptic Inform Med.* – 2004. – V.10. – P.6–7.

5. Isakau, H.A. Isolation and identification of impurities in chlorin e6 / H.A. Isakau, T.V. Trukhacheva, P.T. Petrov // *J. of Ph. and Biomed. Analysis.* – 2007. – V.45. – P.20–29.

6. Валидация методики определения сопутствующих примесей в препарате Фотолон спектрофотометрическим методом / С.Л. Федорук [и др.] // *Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы X международной конференции, Минск, 6-7 апреля 2012 г.* / Изд. центр БГУ, редкол.: В.А. Прокашева [и др.]. – Минск, 2012. – С. 461–463.

7. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», 2006 – 2009. – Т. 2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственно-

го растительного сырья / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: «Типография «Победа», 2008. – С. 234–237.

8. Государственная фармакопея Республики Беларусь II: в 2 т. / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», 2012. – Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: «Типография «Победа», 2012. – С. 908–918.

9. British Pharmacopoeia 2013 [Электронный ресурс]. – Электрон., текстовые дан. и прогр. – Effective date: 1 January 2013. – CD-ROM version.

10. United States Pharmacopoeia 34 – National Formulary 29. The Official Compendia of Standards [Электронный ресурс]. – Электрон., текстовые дан. и прогр. – Official August 1, 2011. – Электрон.опт. диск (CD-ROM).

11. Toward understanding the high PDT efficacy of chlorine e6-polyvinylpyrrolidone formulations: Photophysical and molecular aspects of photosensitizer-polymer interaction *in vitro* / H.A. Isakau [et al.] // *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology* – 2008. – V.92. – P.165–174.

12. Кирш, Ю. Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды / Ю.Э.Кирш. – Москва: Наука, 1998. – 252 с.

Адрес для корреспонденции:

220007, Республика Беларусь,
г.Минск, ул. Фабрициуса, 30,
РУП «Белмедпрепараты»
тел./факс 8 (017) 380 00 36
e-mail: lab659@yandex.ru
or nfc@belmedpreparaty.com
Федорук С.Л.

Поступила 20.05.2014

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

И.В. Шилова, Н.И. Суслов

НООТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ЛАБАЗНИКА ОБЫКНОВЕННОГО

ФГБУ «Научно-исследовательский институт фармакологии
имени Е.Д. Гольдберга» СО РАМН, г. Томск

Экстракт надземной части лабазника обыкновенного на 40% этаноле способствует увеличению латентного времени гипоксии у животных в условиях гермокамеры. Экстракт оказывает защитное действие на функции центральной нервной системы при гипоксическом воздействии: восстанавливает двигательную активность в «открытом поле», улучшает ориентировочный рефлекс и сохранность условного рефлекса пассивного избегания. Курсовое введение экстракта повышает двигательную активность нормальных животных в «открытом поле», а также увеличивает работоспособность и ускоряет процесс адаптации к физическим нагрузкам. Установлено, что наиболее выраженной ноотропной активностью обладает экстракт растения в дозе 50 мг/кг.

*Ключевые слова: лабазник обыкновенный, *Filipendula vulgaris Moench*, *Filipendula hexapetala Gilib.*, ноотропная активность, экстракт.*

ВВЕДЕНИЕ

Лабазник обыкновенный *Filipendula vulgaris Moench* (л. шестилепестный *F. hexapetala Gilib.*, таволга шестилепестная, т. степная, земляной орех) семейства *Rosaceae* произрастает в диком виде почти повсеместно в степной и лесостепной зонах в европейской части России, на Кавказе, в Сибири, Западной Европе и Средней Азии [1, 2]. Надземную и подземную части растения применяют в народной медицине в качестве вяжущего, противовоспалительного, ранозаживляющего, антибактериального, антифунгального, диуретического, тонизирующего и гемостатического средства [1–3].

В качестве лекарственного растительного сырья используют корневища и корни лабазника обыкновенного (ФС 42–49–72), входящие в состав сбора для приготовления микстуры по прописи М.Н. Здренко, применяемого как симптоматическое средство при папилломатозе мочевого пузыря, антацидных гастритах и онкологических заболеваниях. Водный экстракт корневищ и корней проявляет гепатопротекторную и иммунотропную активность [4, 5], настой цветков – кардиопротекторное [4], седа-

тивное [6] и анальгетическое действие [7].

Надземная часть лабазника обыкновенного содержит фенологликозиды (монотропитин), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, лютеолин, гиперозид, авикулярин, изокверцитрин, кверцитрин, спиреозид, рутин; катехины, лейкоантоцианидины, халконы), фенолокислоты (салициловая, кофейная, хлорогеновая, п-кумаровая, синаповая, сиреневая, галловая), кумарины, дубильные вещества, тритерпеновые и жирные кислоты, полисахариды, каротиноиды, аскорбиновую кислоту, азотсодержащие соединения, аминокислоты и макро- и микроэлементы [1, 5, 7–13, 15].

Сведения источников литературы о наличии седативных [6] и тонизирующих [2, 3] свойств у извлечений из растения, их разнообразный химический состав дают основание предполагать проявления ноотропного действия биологически активных веществ лабазника обыкновенного.

Целью работы является исследование ноотропных свойств экстракта надземной части лабазника обыкновенного на 40% этаноле на модели «открытое поле», гипоксии гермообъема, условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) и принуди-

тельного плавания с утяжеляющим грузом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Надземную часть лабазника обыкновенного собирали в июле 2004 г. в фазу цветения – начала плодоношения в окрестностях п. Аникино Томского района Томской области. Высушенное воздушным способом сырье измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 2–4 мм (влажность 7,4%). Экстракт получали обработкой измельченной надземной части растения 40% этанолом трижды на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин при температуре 85°C и соотношении сырье–экстрагент 1:10. Полученные извлечения объединяли, фильтровали и упаривали в вакууме при температуре не выше 60°C. Экстракт содержит 1,65% флавоноидов в пересчете на кверцетин. Выход полученного экстракта составляет 17,4% [14, 15].

Фармакологические испытания проводили на 110 аутбредных мышах–самцах CD–I (I категории, согласно сертификату) массой 20–22 г. Животные получены из отдела экспериментальных биологических моделей ФГБУ «НИИ фармакологии имени Е.Д. Гольдберга» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. Эксперименты осуществляли в зимне–весенний период. Работы в рамках экспериментальных методик выполняли с 9 до 15 ч. Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном рационе кормления в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (г. Страсбург, 1986). Экстракт вводили животным курсом ежедневно один раз в день через зонд в желудок в воде за 1 час до начала экспериментальных манипуляций в дозах 10, 50, 200 и 1000 мг/кг. Животные контрольных групп получали эквивалентное количество воды.

Ноотропную активность изучали в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005) [16]. Влияние экстракта на обучение и память исследовали при выработке и воспроизведении условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [17]. Для оценки функционального состояния ЦНС изучали ориентировочно-исследователь-

ское (эксплоративное) поведение на модели «открытое поле» [18]. Устойчивость к гипоксическому воздействию оценивали в условиях гипоксии гермообъема [16], при этом животных выдерживали в гермокамере до наступления первого судорожного припадка или агонального дыхания (латентное время гипоксии). Влияние на физическую работоспособность и адаптацию к физическим нагрузкам изучали в условиях принудительного плавания с утяжеляющим грузом – 10% от массы тела мыши [16], при температуре воды 28°C в течение 5-ти дней. На 6-й день исследования оценивали депрессию работоспособности, вызванную снижением температуры воды до 16°C. В условиях эксперимента качество высшей нервной деятельности оказывает максимальное влияние на работоспособность и адаптацию к экстремальным физическим нагрузкам, поэтому данную методику дополнительно использовали для подтверждения ноотропных свойств. Экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием *t* критерия Стьюдента, непараметрического критерия Вилкоксона и метода Фишера для сравнения долей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перенесенная гипоксическая травма в эксперименте способствовала нарушению когнитивного поведения животных (таблицы 1,2). В группе гипоксического контроля у животных отмечали снижение ориентировочно-исследовательского (эксплоративного) поведения в «открытом поле» за счёт уменьшения выраженности локомоторной активности и норкового рефлекса, нарушение ориентировочного рефлекса при выработке УРПИ (увеличение латентного времени выполнения безусловного рефлекса предпочтения темного пространства, то есть времени захода в темный отсек) и ухудшение воспроизводимости рефлекса при его проверке.

Введение экстракта лабазника обыкновенного на 40% этаноле в дозах 10, 200 и 1000 мг/кг приводит к появлению тенденции увеличения латентного времени гипоксии у животных в условиях гермокамеры, а в дозе 50 мг/кг способствует достоверному увеличению этого показателя в эксперименте (таблица 1). Исследуемый экстракт в дозах 10 и 50 мг/кг увеличива-

Таблица 1 – Влияние экстракта надземной части лабазника обыкновенного на 40% этаноле на время пребывания мышей в условиях гермокамеры, выработку и сохранность условного рефлекса пассивного избегания после гипоксического воздействия ($\bar{X} \pm m$, n=10)

Группа наблюдения, доза	Латентное время гипоксии, мин	Латентное время захода в темный отсек при выработке рефлекса, с	Доля животных с сохранившимся рефлексом при проверке, %	
			через 48 ч	на 21 сут после выработки
Интактный контроль	–	22,0±2,4*	100*	90*
Гипоксический контроль	30,6±0,6	61,7±18,5	0	20
Экстракт, 10 мг/кг	34,8±1,9	34,1±3,4	90*	80*
Экстракт, 50 мг/кг	37,1±1,2*	41,8±7,4	100*	80*
Экстракт, 200 мг/кг	33,3±1,2	84,0±31,1	90*	80*
Экстракт, 1000 мг/кг	33,6±0,9	22,0±3,0	59	22

Примечание: * – различие достоверно в отношении гипоксического контроля, $p < 0,05$.

Таблица 2 – Влияние экстракта лабазника обыкновенного на 40% этаноле на показатели ориентировочно-исследовательского поведения мышей в «открытом поле» через 30 мин после гипоксического воздействия ($\bar{X} \pm m$, n=10)

Группа наблюдения, доза	Суммарная двигательная активность	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Норковый рефлекс	Грумминг	Дефекация
Интактный контроль	99,7±8,9*	52,7±4,7*	4,9±0,8	39,3±5,1	0,7±0,2	2,±10,6
Гипоксический контроль	71,1±9,0	39,0±4,0	4,8±2,3	26,5±2,8	0,4±0,2	0,3±0,2
Экстракт, 10 мг/кг	91,7±9,7*	53,7±6,9*	4,8±1,0	32,8±5,6	0,4±0,2	0,0±0,0
Экстракт, 50 мг/кг	93,4±9,4*	56,2±6,6*	5,9±1,1	31,3±3,1	0,0±0,0	0,0±0,0
Экстракт, 200 мг/кг	56,9±9,9	30,0±6,6	4,8±1,1	21,3±3,8	0,6±0,2	0,2±0,1
Экстракт, 1000 мг/кг	63,2±8,0	39,3±6,2	6,0±1,3	17,4±1,9	1,8±0,4	0,7±0,2

Примечание: * – различие достоверно в отношении гипоксического контроля, $p < 0,05$.

ет двигательную активность в «открытом поле» после гипоксического воздействия за счет повышения горизонтальной активности и тенденции к таковому норкового рефлекса, в дозах 200 и 1000 мг/кг он не оказывает влияния на показатели ориентировочно-исследовательской активности в условиях эксперимента (таблица 2). В группе животных, получавших экстракт в дозе 50 мг/кг, значения данных показателей максимально приближаются к интактному контролю.

Использование экстракта в дозах 10, 50 и 200 мг/кг способствует появлению тенденции к снижению латентного времени захода животных в темный отсек при выработке рефлекса после гипоксической травмы (таблица 1). Эффект экстракта в дозе 1000 мг/кг приближается к таковому

интактного контроля по данному показателю. Исследуемый экстракт в дозах 10, 50 и 200 мг/кг улучшает сохранность УРПИ при проверках после гипоксии (таблица 1). Максимальные отличия между группами отмечаются через 48 ч и на 21 сутки эксперимента. Экстракт в дозе 1000 мг/кг уступает остальным дозам по воздействию на данный показатель. Наибольшей активностью обладает экстракт в дозе 50 мг/кг.

Курсовое введение экстракта лабазника обыкновенного на 40% этаноле в дозах 10, 50 и 200 мг/кг способствует увеличению двигательной активности нормальных животных в «открытом поле» преимущественно за счет повышения горизонтальной, вертикальной активности и норкового рефлекса (таблица 3). Наи-

Таблица 3 – Влияние экстракта надземной части лабазника обыкновенного на 40% этаноле на показатели ориентировочно-исследовательского поведения нормальных мышей в «открытом поле» ($\bar{X} \pm m$, n=10)

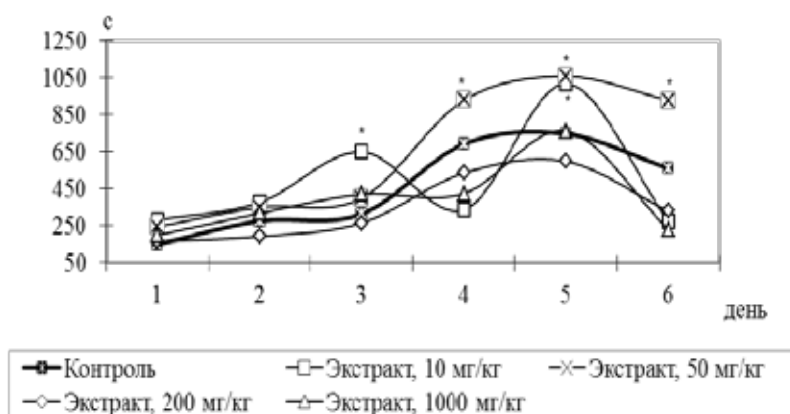
Группа наблюдения, доза	Суммарная двигательная активность	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Норковый рефлекс	Груминг	Дефекация
Интактный контроль	51,9±6,2	30,4±3,9	0,7±0,3	17,5±2,7	0,7±0,3	2,6±1,9
Экстракт, 10 мг/кг	78,4±6,5*	50,2±3,1*	2,9±0,8*	24,0±1,7	0,4±0,1	0,9±0,4
Экстракт, 50 мг/кг	90,8±19,5*	46,7±18,4	2,6±0,7*	39,7±1,9*	1,2±0,3	0,7±0,3
Экстракт, 200 мг/кг	78,2±9,4*	42,2±4,8	4,1±1,3*	30,3±4,5*	0,9±0,4	0,7±0,2
Экстракт, 1000 мг/кг	45,0±9,8	24,0±5,2	1,3±0,6	16,0±4,1	3,0±0,7*	0,7±0,1

Примечание: * – различие достоверно в отношении интактного контроля, $p < 0,05$.

большую активацию ориентировочно-исследовательского поведения относительно интактного контроля обеспечивает применение экстракта в дозе 50 мг/кг. В группе животных, получавших экстракт в дозе 1000 мг/кг, отмечается тенденция к снижению ориентировочно-исследовательской деятельности при одновременном повышении смещённой активности (груминга).

В условиях принудительного плавания в группе контрольных животных наблюдали поступательное увеличение работоспо-

собности, характеризующее процесс адаптации к физическим нагрузкам (рисунок). При введении экстракта лабазника обыкновенного в дозах 10 и 50 мг/кг отмечается нарастание продолжительности плавания в сравнении с контролем. Дозы 200 и 1000 мг/кг не оказывают влияния на исследуемый показатель относительно контрольной группы. Наибольшую активность проявляет экстракт в дозе 50 мг/кг, в том числе в случае депрессии работоспособности на 6-й день эксперимента при снижении температуры воды.



По оси абсцисс – день исследования. По оси ординат – продолжительность плавания, с.

Примечание: * – различие достоверно в отношении контроля, $p < 0,05$

Рисунок – Влияние экстракта надземной части лабазника обыкновенного на 40% этаноле на физическую работоспособность и адаптацию к физическим нагрузкам ($\bar{X} \pm m$, n=10)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экстракт надземной части лабазника обыкновенного на 40 % этаноле в дозе 50 мг/кг способствует увеличению латентного времени гипоксии у животных в услови-

ях гермокамеры. Экстракт в дозах 10, 50 и 200 мг/кг оказывает защитное действие на функции ЦНС при гипоксическом воздействии: увеличивает двигательную активность в «открытом поле», улучшает ориентировочный рефлекс и сохранность УРПИ.

Курсовое введение экстракта в дозах 10, 50 и 200 мг/кг повышает двигательную активность нормальных животных в «открытом поле», а в дозах 10 и 50 мг/кг увеличивает работоспособность и ускоряет процесс адаптации к физическим нагрузкам. Наиболее выраженной активностью обладает экстракт растения в дозе 50 мг/кг.

SUMMARY

I.V. Shilova, N.I. Suslov
NOOTROPIC PROPERTIES
OF MEADOW-SWEET ORDINARY
FILIPENDULA VULGARIS MOENCH
OVERGROUND PART EXTRACT

Extract of the meadow-sweet ordinary *Filipendula vulgaris* Moench overground part 40%-ethanol increases the hypoxia latency time in animals in sealed chamber. The extract has a protective effect on the central nervous system during hypoxic exposure: increases locomotive activity in the open field test, contributes to the emergence of tendency to decrease enhance the tentative reflex latent time, improves preservation when checking the reflex of passive avoidance. Therapeutic course of the extract increases motor activity of normal animals in the open field test, as well as enhances efficiency and accelerates the process of adaptation to physical loading. It was found that the most pronounced nootropic activity had a plant extract at a dose of 50 mg/kg.

Keywords: meadow-sweet ordinary, *Filipendula vulgaris* Moench, *Filipendula hexapetala* Gilib., nootropic activity, extract.

ЛИТЕРАТУРА

1. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Hydrangeaceae* – *Haloragaceae* / под ред. А.А. Федорова. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
2. Крылов, Г.В. Зеленая аптека / Г.В. Крылов, Н.Ф. Казакова, Э.В. Степанов. – Кемерово: Современ. отеч. кн., 1993. – 334 с.
3. Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири / В.Г. Минаева. – Новосибирск: Наука, 1991. – 428 с.
4. Исследование влияния дигидрокверцетина и настоя цветков лабазника шестилепестного на функциональное состояние миокарда крыс в условиях моделирования эмоционально-иммобилизационного стресса / Ю.А. Сухомлинов [и др.] // Вестн. Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 2. – С. 209–213.
5. Максимова, О.В. Иммуномодулирующая и регенерационная активность лабазника шестилепестного : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.36 / О.В. Максимова. – Курск, 1999. – 21 с.
6. Турищев, С.Н. Современная фитотерапия / С.Н. Турищев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 144, 149.
7. Research of *Filipendulae hexapitalae* Flores products / M.-L. Popescu [et al.] // Farmacia (Romania). – 2002. – Vol. 50, № 2. – P. 34–38.
8. Бубенчикова, В.Н. Лабазник шестилепестный: аминоксилотный и минеральный состав / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Сухомлинов // Фармация. – 2005. – № 3. – С. 9–11.
9. Chromatografic study of *Filipendulae hexapetalae* Flores polyphenols / M.-L. Popescu [et al.] // Farmacia (Romania). – 2003. – Vol. 51, № 4. – P. 92–98.
10. Hegnauer, R. Chemotaxonomie der Pflanzen / R. Hegnauer. – Basel; Stuttgart: Birkhauser Verlag, 1973. – 728 s.
11. Horhammer, L. Uber die Flavonglikoside der Gattungen *Filipendula* und *Spiraea* / L. Horhammer, R. Hansel, W. Endres // Arch. Pharmaz. – 1956. – № 3. – P. 133–140.
12. Smolaze, H.D. Chromatografic analysis of phenolic acids in *F. ulmaria* (L.) Maxim. and *F. hexapetala* Gilib / H.D. Smolaze, A. Sokolowska-Wozniak // Chem. Environm. Res. – 2003. – Vol. 12, № 1. – P. 7782.
13. Smolaze, H.D. High-performance liquid chromatographic determination of flavonoids in *Filipendula hexapetala* Gilib. / H.D. Smolaze, T.H. Dzido, A. Sokolowska-Wozniak // Act. Polon. Pharmaceut. – Drug res. – 1999. – Vol. 56, № 2. – P. 169–172.
14. Шилова, И.В. Рациональные подходы к поиску и созданию ноотропных средств растительного происхождения / И.В. Шилова // Вестник РУДН. Серия Медицина. – 2007. – № 6. – С. 236–240.
15. Шилова, И.В. Химический состав и ноотропная активность растений Сибири / И.В. Шилова, Н.И. Суслов, И.А. Самылина. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 2010. – 236 с.
16. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. чл.-корр. РАМН Р.У. Хабриева. – 2-е

изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

17. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон. – М.: Высш. шк., 1991. – 398 с.

18. Charney, D.S. Psychobiological Mechanisms of Resilience and Vulnerability: Implications of Successful Adaptation to Extreme Stress / D.S. Charney // Am. J. Psychiatry. – 2004. – V.161, № 2. – P. 195.

Адрес для корреспонденции:

634028, Российская Федерация,
г. Томск, пр. Ленина, 3,
НИИ фармакологии
имени Е.Д. Гольдберга СО РАМН,
лаборатория фитофармакологии,
e-mail: inessashilova@mail.ru,
тел. +79138087736,
Шилова И.В.

Поступила 27.01.2014 г.

С.Ю. Штрыголь, С.М. Дроговоз, М.В. Зупанец, А.В. Кононенко

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Национальный фармацевтический университет (г. Харьков, Украина)

Патологии опорно-двигательного аппарата работоспособного населения являются одной из важнейших социальных и медицинских проблем. К сожалению, для лечения данных заболеваний нет ни одного противоартритного лекарственного средства без побочных реакций. В связи с этим, актуальным является поиск современных противоартритных лекарственных средств, особенно природного происхождения, как менее токсичных. В данной работе изучены антиартритные свойства 2-х фармакологически активных веществ природного происхождения: комбинация соли глюкозамина и фенилантраниловой кислоты (БИСГ-1) и густого экстракта из листьев рябины обыкновенной (ГЭЛРО) на модели коллаген-индуцированного артрита. Доказано, что БИСГ-1 и ГЭЛРО на фоне развития аутоиммунного артрита оказывают выраженное положительное влияние на показатели воспалительного процесса.

Ключевые слова: артрит, глюкозамин, фенилантраниловая кислота, густой экстракт листьев рябины обыкновенной.

ВВЕДЕНИЕ

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) являются наиболее распространенной группой лекарственных средств, обладающих противовоспалительным действием [1,2]. Однако системное действие НПВС сопровождается большим количеством побочных эффектов, которые существенно снижают возможность их применения, вызывая необходимость поиска более безопасных противовоспалительных средств. Для последних сырье природного происхождения является перспективной альтернативой при создании эффективных и безопасных противовоспалительных средств.

По данным литературы известно, что с давних времен в народной медицине рябина обыкновенная применяется при ле-

чении различных заболеваний суставов в связи с высоким содержанием в листьях биологически активных веществ, оказывающих противовоспалительное (фенольные соединения, антоцианы), антиоксидантное (антоцианы, аскорбиновая кислота), репаративное действие (каротиноиды) [3].

Глюкозамин (ГА) – это аминоксахарид, который является естественным компонентом суставного хряща, активирует синтез протеогликанов синовиальной жидкости, угнетает ферменты, фосфолипазу А2, коллагеназу, образование супероксидных радикалов, снижает активность ферментов лизосом [4–8].

N-фенилантраниловая кислота – это производное антраниловой кислоты, которая обладает противовоспалительным, анальгетическим, антиоксидантным, мембраностабилизирующим, жаропонижающим, гепатозащитным действием [9–11].

Целью данной работы является сравнение антиартритной активности 2-х новых фармакологически активных веществ природного происхождения: D-(+)-глюкозиламониевая соль замещенная 5-нитро-N-фенилантраниловой кислоты (БИСГ-1); густой экстракт листьев рябины обыкновенной (ГЭЛРО).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование влияния БИСГ-1 и ГЭЛРО на течение коллаген-индуцированного артрита (КИА) проведено на 50 белых крысах обоего пола массой 180–200 г, которые были распределены на 5 групп по 10 животных в каждой: первая группа – интактный контроль; вторая группа – контрольная патология; третья и четвертая группы животных с КИА, получавшие БИСГ-1 в дозе 11 мг/кг, что соответствует эквимолекулярной дозе по отношению к диклофенаку натрия 8 мг/кг, и ГЭЛРО в дозе 100 мг/кг, доза которого была определена как условно-терапевтическая в скрининговых исследованиях на моделях карагенинового и зимозанового отеков у крыс [12]. Референтным лекарственным средством был выбран «золотой стандарт» противоартритной терапии натрия диклофенак в дозе 8,0 мг/кг (Вольгарен, "Novartis Pharma S.A.S.", табл. по 25 мг) [1, 12].

В ходе эксперимента у крыс 2, 3, 4 и 5 групп воспроизводили аутоиммунный артрит путем подкожного введения в основание хвоста эмульгированной смеси 0,2 % раствора бычьего коллагена II типа ("Sigma-Aldrich", США) в 0,1 М уксусной кислоте и полного адьюванта Фрейнда ("Sigma-Aldrich", США) в соотношении 1:1 в дозе 2 мг/кг по коллагену. Через неделю для потенцирования аутоиммунного процесса повторно вводили иммунизирующую смесь в той же дозе. Начиная с 14 дня и в течение последующих дней эксперимента крысам 3 и 4 групп внутривенно вводили фармакологически активные вещества (БИСГ-1 и ГЭЛРО) в виде водных суспензий 1 раз в сутки, а животным 5 группы в таком же терапевтическом режиме вводили референтное средство.

Измеряли объем задней правой лапы крысы при помощи цифрового плетизмометра ИТС Life Science (США) на 14 и 28 день артрита, рассчитывая величину отека.

На 14 и 28 день с помощью стандартных методов определяли маркеры воспа-

ления: количество лейкоцитов и скорость оседания эритроцитов (СОЭ); содержание сиаловых кислот (СК) по методу Гесса и С-реактивного белка определяли с помощью иммунохимических наборов "Иму-ЛА-Тест" производства "PLIVA-Lachema Diagnostika" (Чехия) [3]. На 28-е сутки эксперимента животных подвергали декапитации под эфирным наркозом с целью клинических и биохимических исследований показателей крови.

Организация доклинической экспериментальной работы на лабораторных животных осуществлялась с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986), V-го Национального конгресса по биоэтике (Киев, 2013), что подтверждено заключением локальной биоэтической комиссии НФаУ (№3 от 19.03.2014) [12, 13].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 на основе однофакторного дисперсионного анализа с использованием критерия Краскела-Уолиса, Ньюмена-Кейлс при уровне достоверности $p < 0,001$ [11, 14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После моделирования коллаген-индуцированного артрита (КИА) у животных наблюдалось развитие полиартрита, проявлением которого была гиперемия, отек конечностей с увеличением их объема и болезненностью при нажатии. На 10-14 день эксперимента наблюдалось максимальное проявление признаков полиартрита. У животных снижалась подвижность в течение дня, потребление пищи и воды.

На фоне модельного КИА в группах животных на 14 день (пик патологии) отмечался отек конечностей, который по разнице объема лап по отношению к исходному находился на уровне от $0,8 \pm 0,07$ до $0,88 \pm 0,04$ см³. На 28 день эксперимента в группе крыс наибольшая противовоспалительная активность (54 %) отмечалась на фоне применения диклофенака натрия. Антиэкссудативная активность наблюдалась и при применении на фоне КИА фармакологически активных веществ БИСГ-1 и ГЭЛРО и составила 42,1 и 35,5 %, соответственно (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнение антиэкссудативной активности БИСГ-1 и ГЭЛРО на модели коллаген-индуцированного артрита по разнице (Δ) объема лапы крысы, в см^3 ($n = 10$)

Исследуемая группа	14 день, $\Delta \text{ см}^3$	28 день, $\Delta \text{ см}^3$	Активность на 28 день
Контрольная патология (КП)	0,88±0,04	0,83±0,03	-
БИСГ-1; 11,0 мг/кг	0,86±0,06	0,54±0,02 ***	42,1 %
ГЭЛРО; 100 мг/кг	0,80±0,07	0,61±0,02 ***	35,5 %
Натрия диклофенак; 8,0 мг/кг	0,85±0,02	0,44±0,02 ***	54,0 %

Примечание: * – $p < 0,001$ по отношению к КП на 28 день; ** – $p < 0,001$ по отношению к показателю на 14 день эксперимента.

На 14 сутки на фоне патологии уровень лейкоцитов и СОЭ во всех экспериментальных группах были на одном уровне. В группе КП количество лейкоцитов составляло $18,79 \pm 0,54 \times 10^9/\text{л}$. На 28 сутки эксперимента у животных с контрольной патологией количественное содержание лейкоцитов составило $18,61 \times 10^9/\text{л}$, а СОЭ – 8,94 мм/час, что соответственно в 1,8 и в 2 раза превысило показатель интактных животных. Следовательно, прослеживалась прямая корреляционная зависимость между степенью увеличения объема лапы крысы и увеличением количества лейкоцитов в крови и скоростью оседания эритроцитов (СОЭ) (таблица 2).

Наиболее значимое нормализующее действие при КИА на показатели лейкоцитов и СОЭ имело средство под шифром БИСГ-1. На 28 сутки лечения животные данной группы не имели достоверных различий относительно интактных животных и достоверно отличались на 50 % от показателей животных группы контрольной патологии (таблица 2).

На фоне применения ГЭЛРО и референтного средства отмечалась также положительная динамика снижения уровня лей-

коцитов и СОЭ относительно нелеченных животных с КИА. Динамика показателей данной группы была тождественна показателям животных, получавших БИСГ-1. Так, при применении ГЭЛРО количество лейкоцитов было статистически достоверно снижено на 39 % по отношению к контрольной патологии, а СОЭ приближалась к показателю интактных животных (таблица 2).

Следовательно, вышеизложенная закономерность иллюстрирует значительный антиартритный потенциал БИСГ-1 и ГЭЛРО, что подтверждено нормализующим влиянием на маркерные показатели воспалительной реакции (лейкоциты и СОЭ) при КИА.

При сравнении антиартритного действия 3-х исследуемых средств следует отметить, что положительное влияния на уровень лейкоцитов было более выражено у БИСГ-1 и натрия диклофенака, чем у ГЭЛРО. Все три изучаемых средства восстановили СОЭ до нормы (таблица 2).

Маркерными показателями воспалительной составляющей патологического процесса при артритах является С-реактивный белок и сиаловые кислоты (СК) [15]. На 14 и 28 день артрита у груп-

Таблица 2 – Влияние БИСГ-1 и ГЭЛРО на показатели уровня лейкоцитов и СОЭ на модели коллаген-индуцированного артрита ($n = 10$)

Опытная группа	Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	СОЭ, мм/час
Исходные данные		
Интактный контроль	10,04±0,33	4,22±0,31
14 сутки		
Контрольная патология	18,79±0,54*	8,98±0,65*
БИСГ-1, 11 мг/кг	18,72±0,44**	9,02±0,31**
ГЭЛРО; 100 мг/кг	18,73±0,93**	8,89±0,96**
Натрия диклофенак; 8,0 мг/кг	18,78±0,57**	8,96±0,42**
28 сутки		
Контрольная патология	16,73±0,37*	7,80±0,34*
БИСГ-1, 11 мг/кг	9,31±0,41**	4,58±0,24**
ГЭЛРО; 100 мг/кг	11,41±1,61**	4,49±0,94**
Натрия диклофенак; 8,0 мг/кг	10,24±0,45**	4,93±0,42**

Примечания: * – $p \leq 0,05$ относительно интактных животных; ** – $p \leq 0,05$ относительно контрольных животных.

пы контрольной патологии по отношению к интактным животным в 5,5 раза повышался уровень С-реактивного белка и в 1,3 раза уровень СК, что свидетельствует об активном развитии иммуновоспалительного патологического процесса в соединительной ткани животных, который приводит не только к появлению воспалительной реакции, но и к деструкции ткани [6].

На модели КИА доказана положительная динамика нормализации данных биохимических показателей на фоне лечения исследуемыми средствами (таблица 3). На 28 день эксперимента на фоне применения БИСГ-1 отмечалась нормализация содержания С-реактивного белка, приближавшегося до уровня интактных животных. Статистически достоверно снижался в 2,8 раза данный показатель и относительно нелеченных животных. Под влиянием

вещества БИСГ-1 снижалось содержание СК в 1,3 раза по отношению к контрольной патологии. Следует отметить, что БИСГ-1 по степени нормализующего влияния на уровень С-реактивного белка и СК достоверно не превышает лекарственное средство сравнения натрия диклофенак, который снижал данные показателя до 8,6 мг/л и 3,52 ммоль/л, соответственно (таблица 3).

При применении ГЭЛРО содержание С-реактивного белка в сыворотке крови животных на 28 день эксперимента снижалось до 12,59 мг/л (на 38 % по отношению к контрольной патологии). Однако этот показатель достоверно отличается от интактного контроля в 5,5 раза. Под влиянием ГЭЛРО отмечалась тенденция к снижению уровня СК (до $3,95 \pm 0,23$ ммоль/л) по отношению к контрольной патологии ($4,46 \pm 0,36$ ммоль/л).

Таблица 3 – Влияние БИСГ-1 и ГЭЛРО на содержание С-реактивного белка и сиаловых кислот в сыворотке крови на модели коллаген-индуцированного артрита (n = 10)

Исследуемые группы	С-реактивный белок, мг/л	Сиаловые кислоты, ммоль/л
Исходные данные		
Интактный контроль	$3,65 \pm 0,34$	$3,35 \pm 0,32$
14 сутки		
Контрольная патология	$21,09 \pm 0,34^*$	$4,42 \pm 0,36$
БИСГ-1; 11 мг/кг	$19,89 \pm 0,34^{**}$	$4,43 \pm 0,44^{**}$
ГЭЛРО; 100 мг/кг	$20,07 \pm 0,46^{**}$	$4,40 \pm 0,36^*$
Натрия диклофенак; 8,0 мг/кг	$20,13 \pm 0,69^{**}$	$4,41 \pm 0,43^{**}$
28 сутки		
Контрольная патология	$20,19 \pm 0,65^*$	$4,46 \pm 0,36$
БИСГ-1; 11 мг/кг	$7,11 \pm 0,47^{**}$	$3,41 \pm 0,34^{**}$
ГЭЛРО; 100 мг/кг	$13,02 \pm 0,62^{**}$	$3,95 \pm 0,23^*$
Натрия диклофенак; 8,0 мг/кг	$8,59 \pm 0,65^{**}$	$3,52 \pm 0,26^{**}$

Примечания: * – $p \leq 0,05$ относительно интактных животных; ** – $p \leq 0,05$ относительно группы контрольной патологии.

ВЫВОДЫ

1. Доказано, что БИСГ-1 и ГЭЛРО оказывают выраженное противовоспалительное действие на развитие аутоиммунного артрита.

2. Исследуемые вещества по степени влияния на маркерные показатели воспаления (лейкоциты, СОЭ, СК, С-реактивный белок) приближаются к натрию диклофенаку, за исключением ГЭЛРО, который уступает лекарственному средству сравнения во влиянии на уровень лейкоцитов и С-реактивного белка.

3. Антиэкссудативное (противоотечное) действие натрия диклофенака в сред-

нем на 15 % выше аналогичного действия БИСГ-1 и ГЭЛРО.

4. БИСГ-1 и ГЭЛРО являются перспективными природными корректорами воспалительно-деструктивных заболеваний суставов с аутоиммунным компонентом.

SUMMARY

S.Y. Shtrygol, S.M. Drogovoz,
M.V. Zupanets, A.V. Kononenko
STUDY OF THE ANTIINFLAMMATORY
ACTIVITY OF PHARMACOLOGICALS
DRUGS OF NATURAL ORIGIN
Pathology of the musculoskeletal system of
working population is one of the major social and

health problems. Unfortunately, for the treatment of these diseases, there is no single antiarthritic drug without side reactions. In this regard, the current search for advanced antiarthritic drugs, especially of natural origin, as less toxic, is actual. In this paper we study the properties of 2 antiarthritic pharmacological preparations of natural origin: a combination of salt of glucosamine and phenylanthranilic acid and thick extract from the leaves of mountain-ash using the model of collagen-induced arthritis. It was proved that a combination of salt of glucosamine and phenylanthranilic acid and thick extract from the leaves of mountain-ash against the background of autoimmune arthritis have a marked positive effect on the inflammatory process.

Keywords: arthritis, glucosamine, phenylanthranilic acid, thick extract of leaves of mountain-ash.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дроговоз, С.М. Перспективы создания противовоспалительных средств на основе D-(+)-глюкозиламониевых солей 3-оксамоилзамещенных N-фенилантраниловых кислот и экстракта листьев рябины обыкновенной / С.М. Дроговоз, М.В. Зупанец, А.В. Кононенко // Научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств». – 2013. – №2 (3). – С. 64–67.
2. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis / W. Zhang [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2009. – Vol. 68, № 13. – P. 141.
3. Кононенко, А.В. / Вивчення протизапальної активності густого екстракту горобини звичайної на моделі ад'ювантного артриту у щурів / А.В. Кононенко, С.М. Дроговоз, К.Г. Щокіна // Вісник фармації. – 2013. – №1. – С. 70–73.
4. Зупанець, І.А. Експериментальне вивчення протизапальної активності композиції глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку / І.А. Зупанець, С.Б. Попов, І.А. Отрішко // Клінічна фармація. – 2002. – Т.6, № 2. – С. 48–50.
5. Клинико-фармацевтические основы фармакодинамики глюкозамина / В.П. Черных [и др.] // Вісник фармакології та фармації. – 2008. – № 4. – С.40–46.
6. Тулякова, В.О. Розробка протиартрозних препаратів з хондропротекторною, протизапальною та аналгетичною дією на основі аміноцукру глюкозаміну: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра фарм. наук – Х., 2008. – 36 с.
7. Keller, L. Glucosamine for arthritis / L. Keller // Adv. Nurse Pract. – 2003. – Vol. 11, № 6. – P. 19–21.
8. Huser, C.A. Effect of glucosamine derivative on impact-induced chondrocyte apoptosis *in vitro* / C.A. Huser, M. Peacock, M.E. Davies // Osteoarthritis Cartilage. – 2008. – № 16. – P. 125–128.
9. Ісаєв, С.Г. Синтез і дослідження біологічної активності 3,5-динітро-N-фенілантранилових кислот/ С.Г. Ісаєв, О.Л. Чикіна, Г.П. Жегунова // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6. – №4. – С. 13–17.
10. Пошук протизапальних речовин серед D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених 5-нітро-N-фенілантранилових кислот / М.В. Зупанець [та інш.] // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, №2. – С. 52–55.
11. Синтез та фармакологічна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранилових кислот / М.В. Зупанець [та інш.] // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, №3. – С. 38–41.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред.: член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
13. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes – Strasbourg, 18.III.1986.
14. Зупанець, І.А. Фармакологічне дослідження аналгетичної активності препаратів терафлекс і терафлекс аванс / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко // Здоров'я України. – 2008. – С. 70-71.
15. Liacini, A. Triptolide suppresses proinflammatory cytokine-induced matrix metalloproteinase and aggrecanase-1 gene expression in chondrocytes / A. Liacini, J. Sylvester, M. Zafarullah // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2005. – Vol. 327. – P. 320–327.

Адрес для корреспонденции:

61002, Украина,
г. Харьков, ул. Мельникова, 12;
эл. почта: maksym.zupanets@mail.ru;
тел.: +38 (067) 833-03-19,
Зупанець М.В.

Поступила 05.05.2014 г.

ОБЗОРЫ

Е.А. Дикусар¹, В.И. Поткин¹, Н.Г. Козлов¹, Д.А. Рудаков¹, С.Г. Стёпин²

**ФАРМАКОФОРНЫЕ СОЛИ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ И АМИНОВ:
СИНТЕЗ, СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**
Сообщение 2. Соли элементарноорганических и органических кислот, фосфинов,
азотистых оснований, металлов и комплексов металлов

¹Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси
²Витебский государственный технологический университет

Рассмотрены современные данные по синтезу, физико-химическим свойствам и биологической активности солей элементарноорганических и органических кислот с фосфинами и азотистыми основаниями, металлами, комплексами металлов, гидрохлоридами 4-этоксифенилиминометилариллов.

Ключевые слова: соли аминов, трифенилфосфинов, металлов, фениларсоновая кислота, ферроценкарбоновые кислоты, акридон, лупинин, глицерризиновая кислота, солсолидин, фенилиминометиларилы, биологическая активность.

ВВЕДЕНИЕ

В первом сообщении настоящего обзора [1] описан синтез и свойства аминовых и трифенилфосфиновых солей ряда фармакофорных карбоновых кислот и «обычных» оснований, а также синтез солей и свойства фармакофорных, в основном, гетероциклических оснований с рядом простых карбоновых и элементсодержащих кислот. Целью второй части данного обзора было обобщить новые данные по синтезу, физико-химическим свойствам и биологической активности солей элементарноорганических кислот, содержащих мышьяк, железо, бор, с гетероциклическими синтетическими и природными аминами и фосфинами, солей, образованных физиологически активными кислотами и аминами, металлических солей физиологически активных производных карбоновых кислот, гидрохлоридов производных биологически активных аминов, комплексных соединений меди с производными бензимидазола.

В обзоре представлены результаты анализа научных источников литературы, опубликованных, в основном, после 2000 года.

1. Соли фениларсоновой кислоты и гетероциклических аминов. Фениларсоновая кислота широко используется в аналитической химии для осаждения и гравиметрического определения ряда металлов [2]. Мышьякорганические соединения до насту-

пления эпохи антибиотиков находили применение при лечении сифилиса, малярии, возвратного тифа, ангины Венсана, гангрены легких и т. д. Среди них можно назвать такие лекарственные средства, как *сальварсан, новарсенол, миарсенол*. В настоящее время эти лекарственные средства в современной медицине не используются [3]. Лекарственное средство *дулекс*, представляющее собой водный раствор арсената натрия 1% и нитрата стрихнина 0,1%, применяется в качестве тонизирующего средства при анемии, неврозах, псориазе. Для этой же цели используют мышьяковый ангидрид As_2O_3 (*белый мышьяк*) в дозировках по 0,001 г [3].

В работе [4] описано получение мышьяксодержащих аминовых солей взаимодействием взятых в стехиометрических соотношениях 1:1 фениларсоновой кислоты и гетероциклических аминов (R) в смеси абсолютных метанола и хлороформа. Реакцию проводили при кипячении в течение 15-25 мин. После удаления растворителей в вакууме выход солей составил 98-99% (рисунок 1).

Полученные соли фениларсоновой кислоты проявили себя в качестве эффективных фунгицидов и цитостатиков.

2. Соли ферроцендикарбоновой кислоты с гетероциклическими аминами и трифенилфосфином. Многие производные ферроцена обладают высокой биологической активностью и могут быть использованы в качестве компонентов лекар-

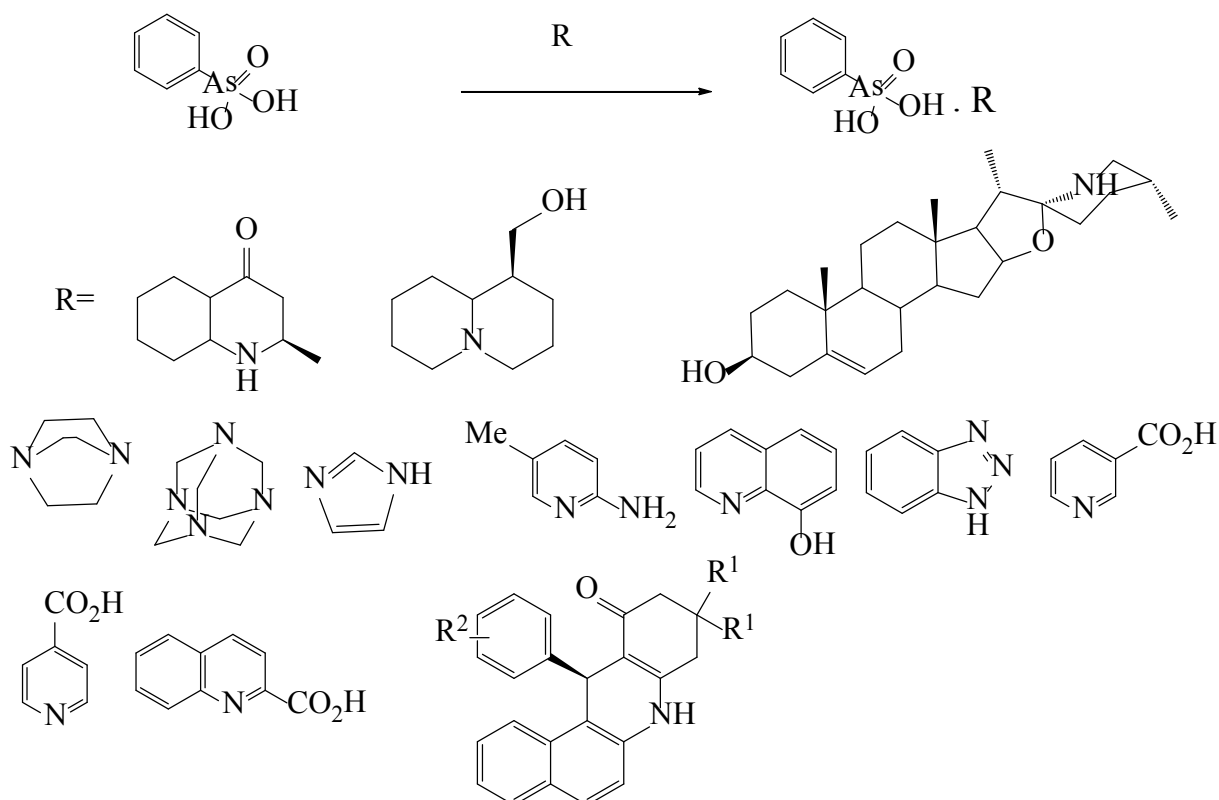


Рисунок 1 – Схема синтеза аминовых солей фениларсоновой кислоты

ственных средств [5]. Среди этих соединений можно назвать *ферроцерон* (натриевая соль 2-карбоксибензоилферроцена) [3а].

В работах [6, 7] представлен препаративный метод синтеза солей 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты и алкалоида лупинина, 2*e*-метил-4-оксодекагидрохинолина, соласодина, 8-гидроксихинолина, некоторых гетероциклических аминов – производных алкалоидов группы акридона и трифенилфосфина (R). Были подобраны оптимальные условия получения ранее неописанных аминовых солей и трифенилфосфиновой соли взаимодействием взятых в стехиометрических соотношениях (1:2) 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты и гетероциклических аминов или трифенилфосфина в среде абсолютного *n*-бутанола. Синтез проводили при кипячении в течение 10-15 мин. После удаления *n*-бутанола в вакууме выход солей составил 94-97% (рисунок 2).

Полученные соли 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты – интенсивно окрашенные в желто-коричневый цвет хрупкие кристаллические вещества, растворимые при нагревании в *n*-бутаноле и диметилсульфоксиде и не растворимые в воде. Они не гигроскопичны и устойчивы при хранении в запаянных ампулах при температуре 0–5°C в темноте.

3. Аминовые соли фармакофорных карбоновых кислот и оснований. В работе [8] соли лупинина с 3- или 4-азометинбензойными кислотами получали твердофазной реакцией лупинина с *E*-3-алкокси-4-ацилоксибензилметил(3- или 4-карбоксибензил)аминами [9, 10], взятыми в стехиометрическом соотношении 1:1. Точные навески (0,0005 моль) исходных соединений тщательно растирали в агатовой ступке в течение 3-5 мин. В процессе растирания реакционной смеси наблюдалось ее плавление с последующим застыванием в виде однородной хрупкой пористой массы. Выход солей лупинина количественный (99-100%), чистота полученных соединений составляла 98±1% (рисунок 3).

Полученные соли – бесцветные или слабоокрашенные кристаллические вещества, хорошо растворимые в диметилсульфоксиде, спиртах C₁₋₄, ацетоне, бензоле, хлороформе и плохо растворимые в воде. Соли гигроскопичны, хорошо хранятся в запаянных ампулах при температуре 0–5°C в темноте. Полученные соли лупинина проявили высокую антимикробную активность против штамма возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis H₃₇R_v* [8].

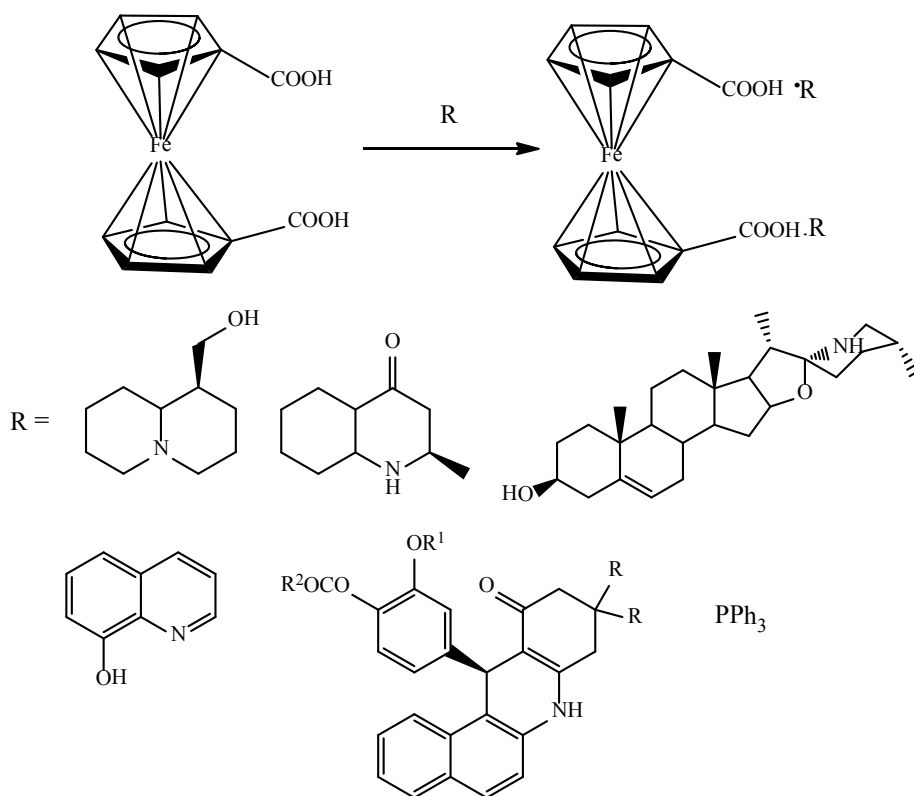


Рисунок 2 – Схема синтеза аминовых и трифенилфосфиновых солей 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты

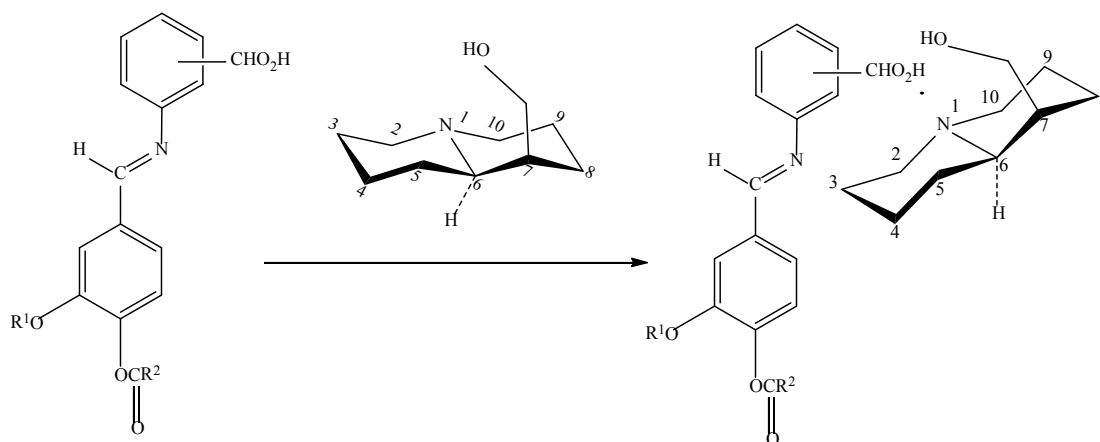


Рисунок 3 – Схема синтеза солей лупинина с азометинбензойными кислотами

В работах [11-13] представлен препаративный синтез солей азометинкарбоновых кислот и некоторых гетероциклических аминов, относящихся к ряду алкалоидов группы акридона и алкалоида соласодина [14,15]. Следует отметить, что исходные азометинкарбоновые кислоты и гетероциклические амины группы акридона являются соединениями, синтезированными на основе доступных природных альдегидофенолов – ванилина и ванилала.

Подобраны оптимальные условия получения аминовых солей взаимодействием взятых в стехиометрических соотношениях 1:1 азометинкарбоновых кислот и гетероциклических аминов в среде абсолютного хлороформа. Реакцию проводили при кипячении в течение 10–15 мин. После удаления хлороформа в вакууме выход солей составил 93–95% (рисунок 4).

Полученные соли – бесцветные или слабоокрашенные хрупкие кристалличе-

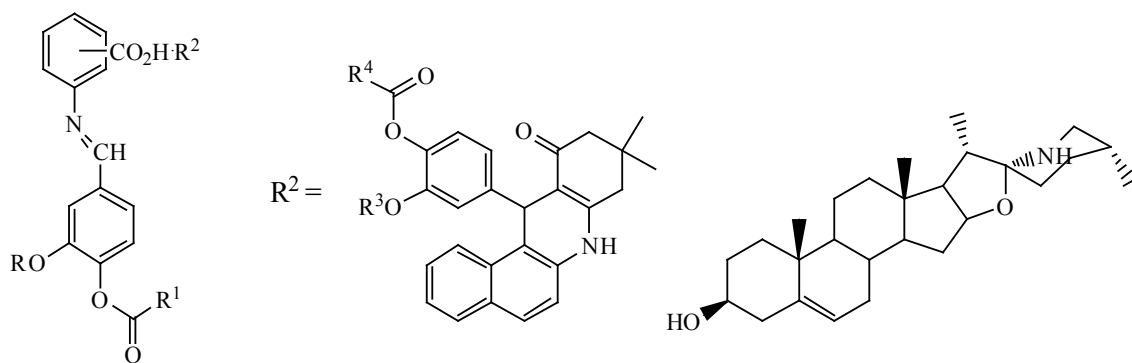


Рисунок 4 – Схема синтеза солей соласодина и алкалоидов группы акридона с азометинкарбонowymi кислотами

ские вещества, растворимые в хлороформе, ацетоне и диметилсульфоксиде и не растворимые в воде. Они не гигроскопичны, хорошо хранятся в запаянных ампулах при температуре 0–5°C в темноте. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа, ЯМР ^1H и ИК спектров. Чистота полученных соединений составила $98 \pm 1\%$.

Глицирризиновая (20 β -карбоксо-11-оксо-30-норолеан-12-ен-3 β -ил-2-О- β -D-глюкопиранозидуруновая) кислота, брутто-формула $\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$, содержится в корне солодки (*Glycyrrhiza glabra*), относится к стероидным сапонинам и сходна по строению с гормонами, вырабатываемыми корой надпочечников (кортизоном, гидрокортизоном и т.д.). Глицирризиновая кислота и ее соли со щелочными металлами обладают ярко выраженным противовирусным действием – ингибируют фосфокиназу и останавливают фосфорилирование клеточных и кодируемых вирусами белков в инфицированных клетках, инактивируют вирусы вне клеток, при этом вирусы опоясывающего герпеса и простого герпеса – необратимо, блокируют внедрение активных вирусных частиц внутрь клетки и нарушают способность вирусов к синтезу новых структурных компонентов. Лекарственные средства на основе глицирризиновой кислоты эффективны против вирусных инфекций половых органов (вирус *Herpes simplex*, тип 2), кожи и слизистых полости рта и носа (вирусы *Herpes simplex*, 1 и 2 типа). Впервые об антивиральном действии глицирризиновой кислоты в отношении вируса простого герпеса (*Herpes simplex*) и вируса ветряной оспы (*Varicella zoster*) было сообщено исходя из данных, полученных *in vitro*, а впоследствии эти данные были

подтверждены на лабораторных животных другими исследователями, в частности, в отношении вирусов гепатитов *A* (*HAV*) и *B* (*HBV*). Было установлено, что глицирризиновая кислота модифицирует гликозилирование и сиалирование поверхностного антигена вируса гепатита *B* (*HBsAg*), приводя к его задержке в аппарате Гольджи, чем, видимо, и объясняется его положительное влияние при лечении *HBV*-инфекции. Механизмы антивирального действия глицирризиновой кислоты при *HCV*-инфекции до настоящего времени остаются неизвестными. Однако стимуляция глицирризиновой кислотой синтеза интерферона-гамма с последующей активацией макрофагов и *B*-лимфоцитов, усилением фагоцитоза и продукцией антител, активацией *NK*-клеток, несомненно, вносит вклад в течение хронического гепатита *C*. В то же время ингибирование глицирризиновой кислотой протеинкиназы *P* влечет за собой угнетение фосфорилирования белков, кодируемых вирусом в инфицированных клетках, вызывает цитотоксичность, опосредованную CD4^+ *T*-клетками и фактором некроза опухоли-альфа. Глицирризин рецепторных участков мембраны ингибирует проникновение вируса в клетку за счет блокирования углеводных ферментов, что указывает на возможное подавляющее действие непосредственно на РНК вируса (*HCV RNA*), кроме того, в отличие от интерферона-альфа, ингибирующего позднюю стадию цикла репликации вируса, глицирризиновая кислота активна на его ранней стадии.

Поиск путей синтеза широкой серии соединений на основе глицирризиновой кислоты, в том числе ее аминовых и фосфиновых солей, стимулирует исследования в этом направлении [16,17].

Аминовые соли глицирризиновой кислоты были получены с практически количественным выходом 94–97% взаимодействием взятых в стехиометрических соотношениях 1:1 глицирризиновой кислоты и соответствующих аминов (R) в абсолютном метаноле [18, 19]. Реакцию проводили при кипячении в течение 10–15 мин. После удаления метанола в вакууме были получены соли глицирризиновой кислоты, в том числе содержащие диамины, 2-[3-(алкокси)-4-(гидрокси, алкокси, ацилокси)фенил]-1*H*-бензимидазолы и

гексагидробензо[*a*]акридины, представляющие собой бесцветные или слабоокрашенные хрупкие кристаллические вещества, плохо растворимые в углеводородах, хлороформе и воде, растворимые в диметилсульфоксиде, метаноле и ацетоне. Они не гигроскопичны, хорошо хранятся в запаянных ампулах при температуре 0–5°C в темноте. Строение синтезированных соединений было подтверждено данными элементного анализа, ЯМР ¹H и ИК спектров. Чистота полученных соединений составила 98±1% (рисунок 5).

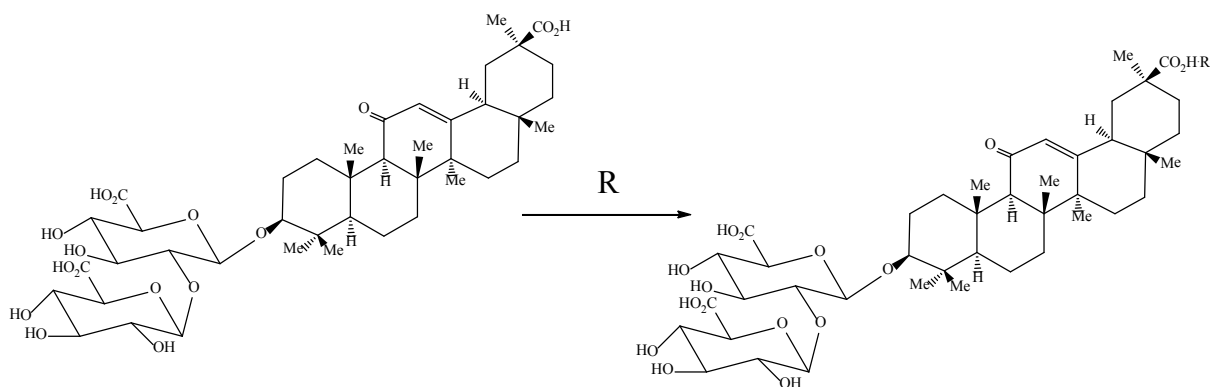


Рисунок 5 – Схема синтеза аминовых солей глицирризиновой кислоты

Аминовые соли глицирризиновой кислоты обладают высокой фунгицидной активностью по отношению к штаммам грибов *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Monilia sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium lividum* и умеренной активностью при концентрации 250 мкг/мл против штаммов бактерий *Escherichia coli B*, *Pseudomonas aeruginosa PA01*, *Pseudomonas putida M*, *Serratia marcescens*, *Pantoea herbicola EH103*, *Salmonella typhimurium TA100*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis 494*, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium smegmatis* [18, 19].

В работах [20, 21] представлен препаративный метод синтеза *N*-*n*-алкилимидомалеопимаровых кислот и их аминовых и трифенилфосфиновых солей. В качестве аминов (R^1NH_2) для синтеза *N*-*n*-алкилимидов были выбраны первичные амины нормального строения: бутил-, гексил-, октил- и додецил. Реакцию получения *N*-*n*-алкилимидов проводили взаимодействием малеопимаровой кислоты и соответствующего амина в растворителе (бензол, толуол) с азеотропной отгонкой выделяющейся воды или в расплаве.

Аминовые и трифенилфосфиновые соли получали взаимодействием *N*-*n*-алкилимидомалеопимаровых кислот с рядом азотсодержащих гетероциклических оснований или трифенилфосфином (R). В качестве гетероциклических оснований использовались 2*e*-метилпергидрохинол-4-он, лупинин, соласадин, diazобикаклооктан, уротропин, имидазол, 2-амино-5-метилпиридин, синтетические аналоги алкалоидов акридинового ряда. Были подобраны оптимальные условия получения солей – взаимодействием взятых в стехиометрических соотношениях 1:1 *N*-*n*-алкилимидомалеопимаровых кислот и оснований (R) в среде абсолютного метанола или смеси абсолютного метанола с хлористым метиленом (1:1). Реакцию проводили при кипячении в течение 10–15 мин. После удаления растворителей в вакууме, выход солей составил 94–97%, чистота полученных соединений составляла 97±1% (рисунок 6).

Полученные соли *N*-*n*-алкилимидомалеопимаровых кислот исследованы на антимикробную активность, в частности, против штамма возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis H₃₇R_v* [20, 21].

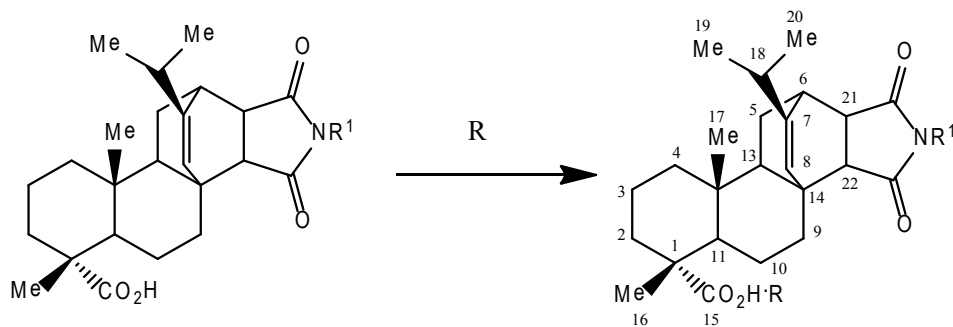


Рисунок 6 – Схема синтеза аминовых и фосфиновых солей алкилимадомалеопимаровых кислот

4. Соли карборанкарбоновых кислот и гетероциклических аминов или трифенилфосфина. В работах [22, 23] описан препаративный синтез аминовых и фосфиновых солей *m*-карборан-*C*-карбоновой-, *m*-карборан-1*C*-изопропил-7*C*-карбоновой- и *m*-карборан-1*C*,7*C*-дикарбоновой кислот, гетероциклических аминов и трифенилфосфина. Аминовые и фосфиновые соли были получены с практически количественным выходом 94-97%, взаимодействием взятых в стехиометрических соотношениях 1:1 *m*-карборанкарбоновых кислот и гетероциклических аминов или трифенилфосфина (R) в смеси абсолютного метанола и хлороформа (1:1). Реакцию проводили при кипячении в течение 10–15 мин (рисунок 7).

Исследование антимикробной активности этих соединений выявило умеренную активность против штаммов бактерий *Escherichia coli* B, *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Pseudomonas putida* M, *Serratia marcescens*, *Pantoea herbicola* EH103, *Salmonella typhimurium* TA100, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* 494, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium smegmatis*. Минимальная ингибирующая концентрация соединений превышала 250 мкг/мл. Изученные соединения обладают средней или достаточно высокой фунгицидной активностью по отношению к различным штаммам грибов [23].

5. Металлические соли функционально замещенных карбоновых кислот. Производные природных аминокислот обладают высокой биологической активностью [24–26], что стимулирует развитие исследований по разработке удобных методов их получения. Особенно актуальным является синтез водорастворимых производных, перспективных для биотестирования и создания лекарственных форм [3, 4, 27].

В работах [28, 29] описан препаративный метод синтеза устойчивых водорастворимых литиевых, натриевых, калиевых и цезиевых солей (*E*)-2-(4-метокси-, 3,4-диметоксибензилиденамино)-2-(алкил-, аралкил)уксусных кислот, полученных взаимодействием анисового или вератрового альдегидов с природными аминокислотами – глицином, L-валином, L-лейцином, L-изолейцином или L-триптофаном в присутствии гидрида лития или карбонатов натрия, калия или цезия (M), взятых в стехиометрических соотношениях в среде кипящего абсолютного метанола. После удаления метанола в вакууме литиевые, натриевые, калиевые и цезиевые соли (*E*)-2-(4-метокси-, 3,4-диметоксибензилиденамино)-2-(алкил-, аралкил)уксусных кислот были получены с количественным выходом, степенью конверсии около 100% и чистотой более 99%.

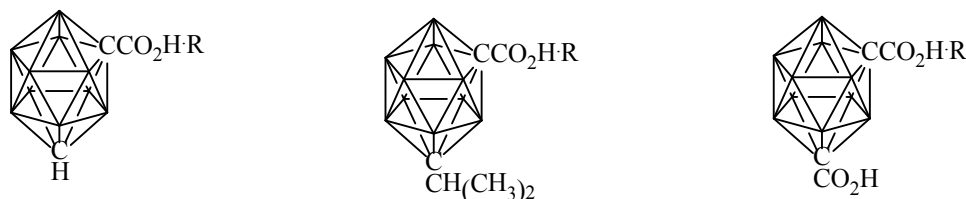


Рисунок 7 – Аминовые и фосфиновые соли карборанкарбоновых кислот

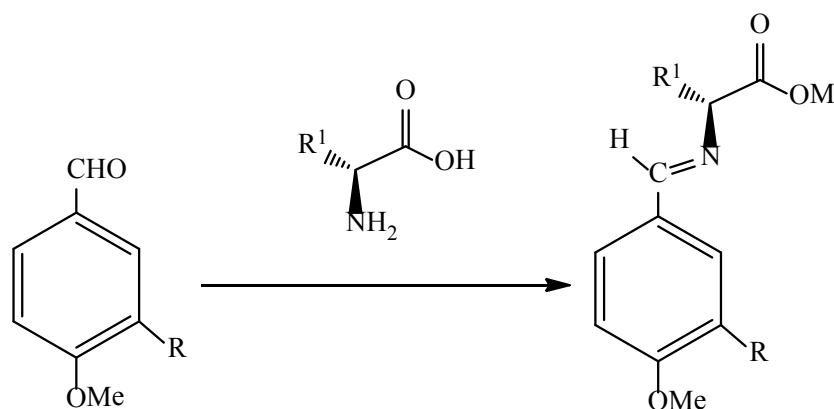


Рисунок 8 – Схема синтеза солей щелочных металлов бензилиденаминокислот

Синтезированные соли (*E*)-2-(4-метокси-, 3,4-диметоксибензилиденамино)-2- (алкил-, аралкил) уксусных кислот представляют собой бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в метаноле, этаноле, диметилсульфоксиде и воде. Кроме того, калиевые и цезиевые соли растворимы в эфире, бензоле и хлороформе, причем, цезиевые соли лучше растворимы, чем калиевые. Соли лития и натрия не гигроскопичны, а соли калия и цезия расплываются при контакте с влажной воздухом, но легко могут быть получены в сухом виде путем удаления следов воды при азеотропной отгонке бензола.

Аналогичным образом с использованием ванилина и ванилаля и метилатов лития, натрия, или калия, взятыми в соотношениях 1:1:2, при кипячении в абсолютном метаноле, синтезированы дисоли бензилиденаминокислот. Синтезированные соли представляют собой бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в метаноле, этаноле и воде. Соли калия в отличие от солей натрия и лития являются гигроскопичными соединениями [30].

Ряд полученных солей и дисолей бензилиденаминокислот проявили высокую фунгицидную активность по отношению к штаммам грибов *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Monilia sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium lividum* и умеренную активность при $c \sim 200$ мкг/мл против штаммов бактерий *Escherichia coli B*, *Pseudomonas aeruginosa PA01*, *Pseudomonas putida M*, *Serratia marcescens*, *Pantoea herbicola EH103*, *Salmonella typhimurium TA100*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis 494*, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium smegmatis*. Эти соединения могут представлять инте-

рес при разработке лекарственных средств для борьбы с микозами у домашних и сельскохозяйственных животных [31].

Взаимодействием бензальдегида, анисового альдегида, вератрового альдегида, метоксиэтокси- и диэтоксибензальдегидов с природными аминокислотами и аминокислотами, гидридом кальция, взятых в стехиометрических соотношениях, в среде кипящего абсолютного метанола синтезированы с практически количественным выходом устойчивые кальциевые соли (*E*)-2-(4-метокси- и 3,4-диалкоксибензилиденамино)-2-(алкил-, аралкил)уксусных или (3- и 4-бензойных) кислот [32].

Синтезированные кальциевые соли (XV-LIV) представляют собой бесцветные хрупкие кристаллические вещества, хорошо растворимые в метаноле и этаноле и умеренно растворимые в диметилсульфоксиде и воде. Их умеренная растворимость в воде позволяет получать лекарственные формы с пролонгированным действием и медленным высвобождением действующих веществ из лекарственных форм (рисунок 9).

Синтезированные кальциевые соли являются перспективными кальцийсодержащими лекарственными средствами, кроме этого они проявляют высокую фунгицидную активность по отношению к штаммам грибов *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Monilia sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium lividum* и умеренную активность против штаммов бактерий *Escherichia coli B*, *Pseudomonas aeruginosa PA01*, *Pseudomonas putida M*, *Serratia marcescens*, *Pantoea herbicola EH103*, *Salmonella typhimurium TA100*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis 494*, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium smegmatis* [32].

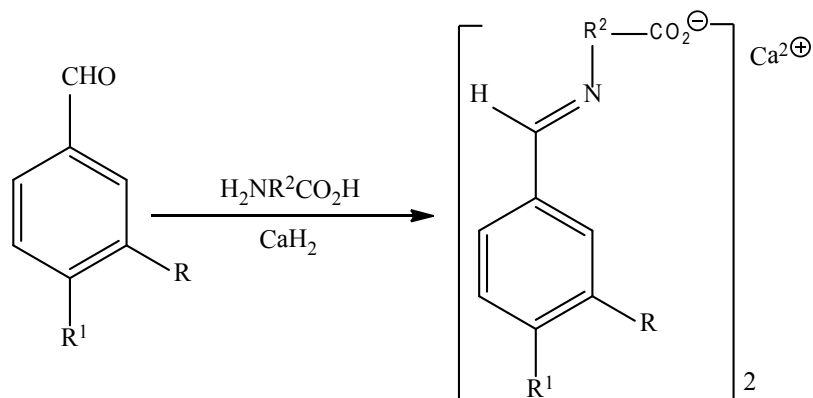


Рисунок 9 – Схема синтеза кальциевых солей бензилиденаминокислот

6. Гидрохлориды (*E*)-4-этоксифенилиминометилариллов. *n*-Фенетидин (4-этоксанилин) приобрел особое значение как исходный материал для получения целого ряда лекарственных средств, начиная с полученного еще в 1887 г. анальгетика и антипиретика фенацетина (ацетил-*n*-фенетидина) [3].

В работе [33, 34] описан препаративный метод синтеза производных (*E*)-4-этоксифенилиминометилариллов, полученных конденсацией *n*-фенетидина с ароматическими альдегидами: бензальдегидом, анисовым и вератровым альдегидами, исходными и замещенными аль-

дегидами ванилинового ряда, 4,4'-диформилбифенилом и госсиполом [2,2'-ди-(1,6,7-триокси-3-метил-5-изопропил-8-нафтаальдегидом)]. Синтез проводили в абсолютном метаноле при температуре кипения растворителя, выход азометиннов составлял 87–93%. Взаимодействием полученных азометиннов с газообразным хлористым водородом в абсолютном эфире были синтезированы соответствующие гидрохлориды 4-этоксифенилиминометилариллов с выходом 89–95%. В разработанных условиях не наблюдалось побочных реакций гидролиза боковых сложноэфирных групп (рисунок 10).

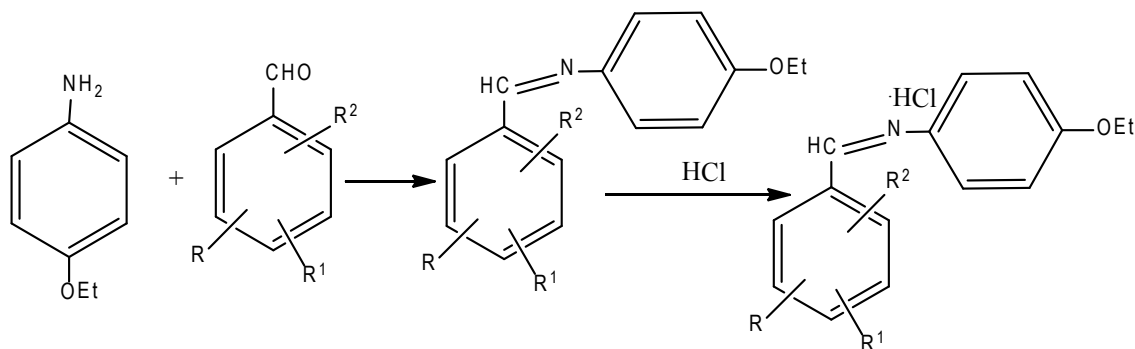


Рисунок 10 – Схема синтеза гидрохлоридов этоксифенилиминометилариллов

Синтезированные соединения представляют собой устойчивые желтые или оранжевые кристаллические вещества, имеющие четкую температуру плавления. Азометины растворимы в эфире, бензоле, хлороформе и диметилсульфоксиде и не растворимы в воде. Гидрохлориды не растворимы в неполярных апротонных растворителях, но растворимы в спиртах, ацетоне, диметилсульфоксиде и воде. Это

обстоятельство делает удобным и перспективным исследование их биологической активности.

7. Комплексы хлорида, сульфата и ацетата меди (II) с 2-[3-алкокси-4-(гидрокси, алкокси, ацилокси)фенил]-1*H*-бензимидазолами. 2-[3-Алкокси-4-(гидрокси, алкокси, ацилокси)фенил]-1*H*-бензимидазолы [35,36] способны выступать в качестве бидентатных и тетраидентатных

лигандов (L) [37] и при взаимодействии с хлоридом, сульфатом и ацетатом меди (II) образовывать стабильные комплексы состава $[\text{CuL}_2]\text{Cl}_2$, $[\text{CuL}]\text{Cl}_2$, $[\text{CuL}_2]\text{SO}_4$, $[\text{CuL}]\text{SO}_4$, $[\text{CuL}_2](\text{OAc})_2$ и $[\text{CuL}](\text{OAc})_2$.

Комплексы были получены кипячением раствора хлорида, сульфата или ацетата меди (II) и соответствующего 2-[3-алкокси-4-(гидрокси, алкокси, ацилокси)фенил]-1*H*-бензимидазола в абсолютном метаноле в течение 15-20 мин [38]. В процессе разработки методики синтеза комплексов использовали различные соотношения металл-лиганд: 1:1, 1:2 и 1:3. Элементный анализ полученных

фаз показал, что при всех соотношениях Cu^{2+} и L выпадает фаза одного состава. Выход комплексов практически количественный – 93–97% (рисунок 11).

Комплексы представляют собой устойчивые красные, коричневые или черные кристаллические вещества, хорошо растворимые в ацетоне, метаноле, этаноле и диметилсульфоксиде, нерастворимые в углеводородах, эфире и воде. Они идентифицированы на основании данных элементного анализа и спектров ИК, УФ и ЯМР ^1H . Полученные медные комплексы обладают высокой фунгицидной активностью [38].

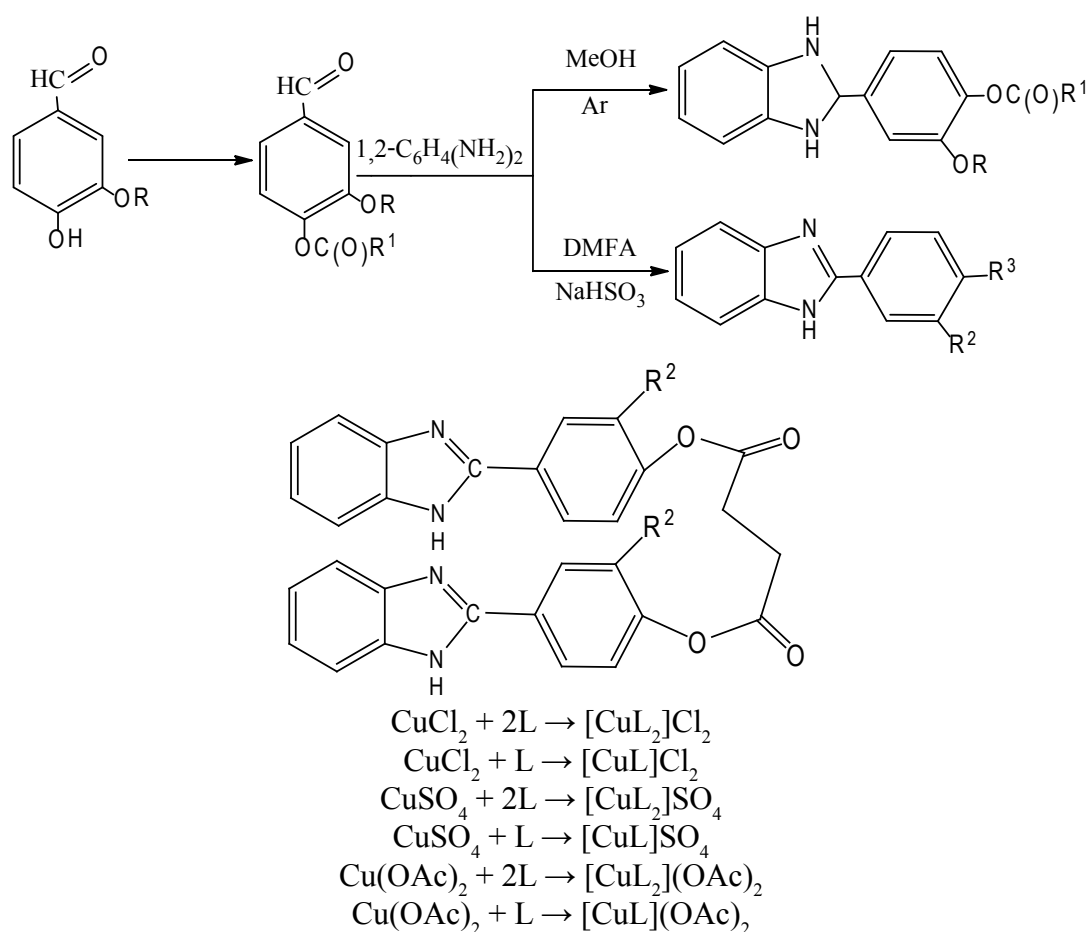


Рисунок 11 – Схема синтеза медных комплексов бензимидазолов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аминовые и фосфиновые соли органических и элементоорганических карбоновых кислот, а также элементсодержащих кислот проявляют высокую биологическую активность. У ряда солей была выявлена противоопухолевая и антимикробная активность. Аминовые и фосфи-

новые соли органических и элементоорганических кислот, соли щелочных и щелочноземельных металлов, гидрохлориды оснований Шиффа и соли медных комплексных соединений являются перспективными лекарственными средствами с противоопухолевой, антибактериальной, противотуберкулезной и фунгицидной активностью.

Еще одним аспектом применения солей органических кислот и аминов может служить разработка и конструирование с их помощью наноразмерных объектов специального медицинского нанотехнологического назначения. При этом фрагменты природных карбоновых кислот и аминов должны играть роль так называемых молекулярных трейлеров для целенаправленной доставки нанобъектов терапевтического назначения в целевые клетки-мишени [39–50].

SUMMARY

E.A. Dikusar, V.I. Potkin,
N.G. Kozlov, D.A. Rudakov, S.G. Stepin
PHARMACOPHORE SALTS OF
ORGANIC ACIDS AND AMINES:
SYNTHESIS, STRUCTURE,
BIOLOGICAL ACTIVITY.
COMMUNICATION 2. SALTS OF
ORGANOELEMENT AND ORGANIC
ACIDS, PHOSPHINES, NITROGEN
BASES, METALS AND METAL
COMPLEXES

The modern data on the synthesis, physico-chemical properties and biological activity of the salts of organoelement and organic acids with phosphines and nitrogen bases, metals, metal complexes, hydrochloride of 4-ethoxyphenyliminomethylaryles are considered.

Keywords: salts of amines, triphenylphosphines, metals; phenylarsonic acid, ferrocene-1,1'-dicarboxylic acids, acridone, lupinine, glycyrrhizic acid, solasolidine, phenyliminomethylaryles, biological activity .

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармакофорные соли органических кислот и аминов: синтез, структура, биологическая активность. Сообщение 1. Аминовые и трифенилфосфиновые соли органических кислот / Е.А. Дикусар [и др.] // Вестник фармации. – 2013. – № 4 (62). – С. 99–110.
2. Шарло, Г. Методы аналитической химии / Г. Шарло. – М. –Л.: Химия, 1965. – 360 с.
3. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2001. – Т.1 и 2. – 608 с.
4. Аминовые соли органических кислот / Е.А. Дикусар [и др.]. – Нукус: «Каракалпакстан». – 2009. – 143 с.
5. Перевалова, Э.Г. Методы элементо-

органической химии. Железоорганические соединения. Ферроцен / Э.Г. Перевалова, М.Д. Решетова, К.И. Грандберг. – М.: Наука, 1983. – 544 с.

6. Синтез солей 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты и гетероциклических аминов / Е.А. Дикусар [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2008. – № 2. – С. 56–58.

7. Аминовые соли 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты и ряда гетероциклических азотсодержащих соединений / Е.А. Дикусар [и др.] // Программа II Международной научной конференции «Химия, технология и медицинские аспекты природных соединений». 10-13 октября 2007. – Алматы, Казахстан. – С. 198.

8. Твердофазный синтез солей лупинина с 3- и 4-аминобензойными кислотами / Е.А. Дикусар [и др.]. // ХПС. – 2008. – № 3. – С. 111–113.

9. 4-Гидрокси (ацилокси)-3-метокси (этоксифенилметил)-3-карбоксиванилин амина / Е.А. Дикусар [и др.] // ЖОрХ. – 2006. – Т. 76. – Вып. 1. – С. 87–94.

10. Препаративный синтез 4-гидрокси(алкилоилокси, арилоилокси)-3-метокси(этоксифенилметил)-4-карбоксиванилин амина / Е.А. Дикусар [и др.] // ЖОрХ. – 2006. – Т. 42. – Вып. 2. – С. 223–230.

11. Дикусар, Е.А. Метил- и этилкарбонаты ванилина и ванилала в синтезе азотсодержащих соединений / Е.А. Дикусар, Н.Г. Козлов // ЖОрХ. – 2007. – Т. 77. – Вып. 5. – С. 809–814.

12. Ароматические азометины на основе производных ванилина и ванилала: синтез, свойства и применение / Е.А. Дикусар [и др.] // Тезисы докладов XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии (23-28 сентября 2007 г.): В 5 т.; Т. 2. – М.: Граница, 2007. – С. 219.

13. Дикусар, Е.А. Соли азометинкарбоновых кислот и гетероциклических аминов группы акридоны и соласодина / Е.А. Дикусар, Н.Г. Козлов, А.П. Ювченко // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2009. – № 4. – С. 99–101.

14. Козлов, Н.Г. Длинноцепные сложные эфиры ванилина в реакции с СН-кислотами и 2-нафтиламином / Н.Г. Козлов, Л.И. Басалаева, Е.А. Дикусар // ХПС. – 2004. – № 1. – С. 70-73.

15. Эфиры ванилина и жирных кислот в синтезе производных 4,7-фенантролина /

Н.Г. Козлов [и др.]. // ЖОрХ. – 2004. – Т. 40. – Вып. 5. – С. 738–743.

16. Синтез и фунгицидная активность аминовых солей глицирризиновой кислоты / Е.А. Дикусар [и др.]. // Сб. тезисов конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений». 12-13 октября 2010 г., Ташкент. - 2010. – С. 59.

17. Синтез и фунгицидная активность аминовых солей глицирризиновой кислоты / Е.А. Дикусар [и др.]. // Сборник материалов конференции «Radostim 2011». Фитогормоны, гуминовые вещества и другие биорациональные пестициды в сельском хозяйстве. 02–04 ноября 2011 г. Минск, Беларусь: Институт биоорганической химии НАН Беларуси, 2011. – С. 44–45.

18. Синтез и изучение фунгицидной активности аминовых солей глицирризиновой кислоты / Е.А. Дикусар [и др.]. // ХРС. – 2011. – № 4. – С. 53–56.

19. Синтез солей глицирризиновой кислоты и гетероциклических аминов / Е.А. Дикусар [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2013. – № 3. – С. 87–93.

20. Аминовые и трифенилфосфиновые соли 3- и 4-азометинбензойных и N-алкилимидомалеопимаровых кислот / Е.А. Дикусар [и др.] // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всероссийской конференции, 21-23 апреля 2009 г.: в 2 кн. / под ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2009. – Кн. 2. – С. – 282–283.

21. Синтез N-н-алкилимидомалеопимаровых кислот, их аминовых и трифенилфосфиновых солей / Е.А. Дикусар [и др.] // ХРС. – 2011. – № 1. – С. 105-109.

22. Синтез и фунгицидная активность производных карборанов / Е.А. Дикусар [и др.] // Тезисы докладов Научно-практической конференции «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения», 25-30 мая, Новый Свет, Украина. – Киев: Издатель В.С. Мартынюк, 2009. – С. 157–158.

23. Синтез, фунгицидная и антимикробная активность аммониевых солей m-карборан-C-карбоновых кислот и гетероциклических аминов / Е.А. Дикусар [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2010. – № 4. – С. 76–78.

24. Nelson, D.L. Leninger Principles of

Biochemistry/ D.L. Nelson, M.M Cox// 5th Ed. New York: W.H. Freeman & Co. Ltd., 2009. – 1100 p.

25. Huges, A.B. Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry. Vol. 1. Origins and Synthesis of Amino Acids/ A.B. Huges // Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., KGaA, 2009. – 610 p.

26. Barrett, G.C. Amino Acids and Peptides / G.C. Barrett, D.T. Elmore // Cambridge: Cambridge University Press, 1998. – 480 p.

27. Stahl, P.H. Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection, and Use / P.H., Stahl, C.G. Wermuth // Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. – 2002. – 220 p.

28. Дикусар, Е.А. Водорастворимые соли щелочных металлов (E)-2-{бензо[d][1,3]диоксол-5-илметил- или 3-метокси-(4-проп-2-ин-1-илокси)бензилиден]аминоуксусных и бензойных кислот / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин, С.Г. Стёпин // Вестник фармации. – 2013. – № 2 (60). – С. 48–53.

29. Дикусар, Е.А. Синтез водорастворимых литиевых, натриевых, калиевых и цезиевых солей (E)-2-(4-метокси-, 3,4-диметоксибензилиденамино)-2-(алкил-, аралкил)уксусных кислот / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин // ЖОрХ. – 2013. – Т. 83. – Вып. 12. – С. 1987–1990.

30. Дикусар, Е.А. Водорастворимые литиевые, натриевые и калиевые дисоли (E)-(3-алкокси-4-гидроксибензилиденамино)-2-(алкил-, аралкил)уксусных или (3- и 4-бензойных) кислот / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин, С.Г. Стёпин // Вестник фармации. – 2013. – № 3 (61). – С. 32–37.

31. Kauffman, C.A. Atlas of Fungal Infection/ C.A. Kauffman, G.L. Mandell // 2-th ed. Philadelphia: Springer, 2007. – 364 p.

32. Дикусар, Е.А. Кальциевые соли (E)-2-(4-метокси и 3,4-диалкоксибензилиденамино)амино-2-уксусных или бензойных кислот / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин, С.Г. Стёпин // Вестник фармации. – 2013. – № 2 (60). – С. 62–67.

33. (E)-4-Этоксифенилиминометиларины и их гидрохлориды / Е.А. Дикусар [и др.] // Материали за 8-а международна научна практична кнф. «Настоящи изследвания и развитие». 17-25-ти януари 1012. София, България. Т. 18. Екология. Химия и химически технологии. Селско стопанство. Ветеринарна наука. София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2012. – С. 30–32.

34. Синтез (E)-4-Этоксифенилиминометилариллов и их гидрохлоридов / Е.А. Дикусар [и др.] // ЖОХ. – 2012. – Т. 82. – Вып. 11. – С. 1840-1843.
35. Дикусар, Е.А. Препаративный синтез 2-[3-алкокси-4-(гидрокси, алкокси, ацилокси)фенил]-1*H*-бензимидазолов на основе замещенных бензальдегидов / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин // ЖОрХ. – 2010. – Т. 46. – Вып. 2. – С. 273–278.
36. Дикусар, Е.А. Синтез 2-[3-алкокси-4-(гидрокси, алкокси, ацилокси)фенил]-5-метил-1*H*-бензимидазолов / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин // ЖОрХ. – 2011. – Т. 47. – Вып. 5. – С. 692–698.
37. Гринберг, А.А. Введение в химию комплексных соединений / А.А. Гринберг // Л.: Химия, 1971. – 632 с.
38. Дикусар, Е.А. Синтез медных комплексов производных бензимидазола / Е.А. Дикусар, В.И. Поткин, С.Г. Стёпин // Вестник ВГТУ. – 2011. – Вып. 20. – С. 132–137.
39. Эндоедрические радон-222-содержащие производные бакминстерфуллеренов C_{60} и C_{80} / Е.А. Дикусар [и др.]. // Углеродные наночастицы в конденсированных средах: сборник научных статей. Минск: Институт тепло- и массообмена им. А.В. Лыкова, 2013. – С. 246–250.
40. Оценка возможности использования эндоедрических радон²²² содержащих производных бакминстерфуллеренов C_{60} и C_{80} в качестве нанороботов – истребителей опухолевых новообразований / Е.А. Дикусар [и др.]. // Медицинские новости. – 2013. – № 3 (222). – С. 11–12.
41. Оценка возможности использования эндоедрических радон²²² содержащих производных бакминстерфуллеренов C_{60} и C_{80} в качестве нанороботов – истребителей опухолевых новообразований / Е.А. Дикусар [и др.]. // Вестник фармации. – 2012. – № 4 (58). – С. 102-105.
42. Дикусар, Е.А. Эндоедрические радон²²² содержащие производные бакминстерфуллеренов C_{60} и C_{80} в качестве нанороботов – истребителей опухолевых новообразований / Е.А. Дикусар // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов: межвуз. сб. науч. тр. / под общей редакцией В.М. Самсонова, Н.Ю. Сдобнякова. Тверь: Твер. гос. ун., 2012. – Вып. 4. – С. 80–84.
43. Металлосодержащие производные фуллеренов, нанотрубок, карборанов, графена и графеноподобных нанокластеров /
- Е.А. Дикусар [и др.]. // Матер. за 7-а Международн. научн. практич. конф. «Найновите постиження на европейската наука», 17-25-ти юни 2011 г. – Т. 35. Химия и химически технологии. София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2011. – С. 7–9.
44. Дикусар, Е.А. Квантово-химическое моделирование цвиттер-ионов эндоедрических производных бакминстерфуллеренов $1,2-(NH_3)@C_{180}(HR)$, $1,2-(NH_3)@C_{240}(HR)$ и $1,2-(NH_3)@C_{540}(HR)$ / Е.А. Дикусар, В.М. Зеленковский, В.И. Поткин // Modern problem of physical chemistry: V International Conference. Conference proceedings. Donetsk, Ukraine 5-8, September, 2011 / О.М. Shendryk (Editor-in-chief). Donetsk, 2011. – P. 239–240.
45. Дикусар, Е.А. Квантово-химическое моделирование процесса образования цвиттер-ионов у эндоедрических производных бакминстерфуллеренов $1,2-(NH_3)@C_{180}(HR)$, $1,2-(NH_3)@C_{240}(HR)$ и $1,2-(NH_3)@C_{540}(HR)$ / Е.А. Дикусар, В.М. Зеленковский, В.И. Поткин // Фуллерены и наноструктуры в конденсированных средах: сб. науч. ст. / редкол.: П.А. Витязь (отв. ред.) [и др.]. Минск: Изд. центр БГУ, 2011. – С. 56–61.
46. Квантовохимическое моделирование эндоедрических производных бакминстерфуллеренов $Gd@C_{60}(CHR)_2$ и $Gd@C_{80}(CHR)_2$ / Е.А. Дикусар [и др.] // Теоретическая и экспериментальная химия. – 2010. – Т. 46. – № 4. – С. 208–211.
47. Квантово-химическое моделирование строения производных карборанов и эндоедрических бакминстерфуллеренов / Е.А. Дикусар [и др.] // Тез. докл. VIII Междунар. научно-практич. конф. «Нанотехнологии – производству – 2012». 4–6 апреля 2012 г., г. Фрязино. – Фрязино, 2012. – С. 49–50.
48. Квантово-химическое проектирование радионуклидных карборановых и бакминстерфуллереновых нанокластерных агентов для диагностики и терапии онкологических заболеваний / Е.А. Дикусар [и др.] // Тез. докл. XI Междунар. научно-практич. конф. «Нанотехнологии – производству». 10–12 апреля 2013 г., г. Фрязино. – Фрязино, 2013. – С. 11–12.
49. Дикусар, Е.А. Квантово-химические расчеты производных фуллереновых нанокластеров, содержащих супрамолекулярные объекты / Е.А. Дикусар, В.М. Зеленковский, А.А. Юдин // Тез. докл. Всероссийской конференции «Итоги и перспективы химии элементоорганических

соединений», посвященной 110-летию со дня рождения академика А.Н. Несмеянова». 28 сентября–2 октября 2009 г. Москва: ИФЗ РАН, 2009. – С. 150, 302.

50. Fullerene nano-cluster as agents for diagnostics and therapy of oncological diseases / E.A. Dikumar [et al.] // Book of Abstracts 5th International Symposium “Methods and Applications of Computational Chemistry”. Kharkiv, Ukraine, 1-5 July 2013. Kharkiv, 2013. – P. 99.

Адрес для корреспонденции:

220072, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Сурганова 13,
Институт физико-органической
химии Национальной академии
наук Беларуси,
Тел +375-17-2841600,
моб. +375-29-6228644,
E-mail: dikumar@ifoch.bas-net.by,
Дикусар Е. А.

Поступила 28.01.2014 г.

Ю.А. Шерякова, О.М. Хишова

ПОДСЛАСТИТЕЛИ В СИРОПАХ И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

В статье представлены обобщенные литературные данные о подсластителях, применяемых в составе сиропов. Показано, что в составе сиропов могут использоваться как синтетические, так и натуральные подсластители.

Ключевые слова: подсластители, сиропы, лекарственное средство.

ВВЕДЕНИЕ

Подсластители (сахарозаменители) – это вещества, используемые для придания сиропам сладкого вкуса. Актуальность применения подсластителей в медицине обусловлена отсутствием в их составе глюкозы, требующей для своего усвоения инсулина, поэтому они могут использоваться в производстве продуктов для больных сахарным диабетом, метаболическим синдромом, для людей со сниженной толерантностью к глюкозе и с избыточной массой тела (в том числе как компонент диетического питания, направленный на снижение калорийности пищевого рациона).

Применение подсластителей также актуально при хронических аллергодерматозах, псориазе, аллергодермите, гнойничковых поражениях кожи, угревой сыпи, себорее. Хорошо известно, что добиться излечения от угревой сыпи трудно, если пациент злоупотребляет простыми сахарами.

Результаты большинства научных исследований и многолетних наблюдений свидетельствуют о том, что потребление разрешенных искусственных подсластите-

лей в допустимых суточных дозах не вызывает изменений в углеводном обмене, не нарушает биосинтеза и секреции инсулина и глюкагона и регулируемых ими процессов углеводного обмена, не оказывает токсического, мутагенного или канцерогенного действия [1].

Подсластители условно подразделяются на интенсивные подсластители и сахарозаменители. Синтетические интенсивные подсластители представлены сахарином и цикламатами (это подсластители «старого» поколения), а также подсластителями «нового» поколения, к которым относятся аспартам, сукралоза, ацесульфам калия [2-4].

Целью исследования является анализ литературных данных о подсластителях, которые могут быть использованы в составе сиропов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При подготовке статьи были проанализированы литературные данные за период с 1986 по 2010 годы для выбора оптимального подсластителя в качестве вспомогательного вещества (консерванта) для производства сиропа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтетические

(интенсивные) подсластители

Сахарин (Е-954, натриевая соль ортосульфобензойной кислоты), $C_7H_5NO_3S$ (М.м. 183,18). Сладость сахарина превышает сахарозную в 300-500 раз. Сахарин не усваивается организмом, а медленно абсорбируется и быстро выводится почками в неизменном виде. Широко используется в пищевой промышленности и производстве лекарственных средств (ЛС). Допустимая дневная доза потребления сахарина принята в количестве 5 мг на 1 кг веса тела человека (не более 500 мг/сут). Сахарин широко используется в качестве одного из ингредиентов в разнообразных смесях с другими искусственными подсластителями, выпускаемыми производителями во многих странах под фирменными названиями (брендами): «Сусли» (Германия), «Сукразит» (Израиль), «Дианер», «Суалин» (Чехия) и др. После применения сахарина описаны единичные случаи неприятных ощущений в ногах - «синдром беспокойных ног» (De Groot S.; 2006) [3].

Цикламаты (Е-952; в эту группу подсластителей входят натриевые и калиевые соли цикламовой кислоты), $C_6H_{12}NNaO_3S$ (М.м. 201,22) [3]. Сладость цикламатов превышает сахарозную в 30 раз. Применение цикламатов в некоторых странах не разрешено из-за опасений нефротоксического и канцерогенного действия. Тем не менее, ввиду отсутствия уверенных научных данных относительно вредного воздействия цикламатов на организм человека ВОЗ определила их безопасную допустимую дозу для взрослых до 10 мг/кг массы тела [4].

Аспартам (Е-951, состав: 40% - аспарагиновая аминокислота, 50% - фенилаланиновая аминокислота, 10% - сложный метиловый эфир), $C_{14}H_{18}N_2O_5$ (М.м. 294,3). Сладость аспартама превышает сахарозную примерно в 200 раз. Ориентировочная безопасная доза аспартама составляет 5-10 мг/кг массы тела. Как и сахарин, аспартам часто выпускается в смесях с другими подсластителями (чаще всего с ацесульфамом-К, смесь с которым обеспечивает лучшее вкусовое ощущение) и под различными названиями (в Австралии, например, «Equal»). В конце 1997 г. из аспартама получен новый подсластитель «Неот-

ам», который в 25-30 раз слаще аспартама и значительно (в 50-60 раз) более устойчив в органических кислотах и водных растворах. Аспартам противопоказан больным фенилкетонурией [4].

Ацесульфам-К (Е-950; калиевая соль сложного органического соединения 6-метил-1,2,3-оксатиацин-4 (3-Н)-2,2-диоксида), $C_4H_4KNO_4S$ (М.м. 201,24). Сладость Ацесульфам-К превышает сахарозную в 150-200 раз. Допустимая безопасная доза - до 15 мг/кг массы тела (по некоторым данным, суточная доза Ацесульфам-К не должна превышать 1,0 г или не более 8 мг/кг массы тела). Не усваивается организмом и быстро выводится. Продукты с этим подсластителем не рекомендуются употреблять детям, беременным и кормящим женщинам. Торговое название «Sweet One» [4].

Сукралоза (Е-955; химическое соединение из семейства хлорированных углеводов), $C_{12}H_{19}O_8Cl_3$ (М.м. 397,64). Считается одним из наиболее безопасных для здоровья подсластителей, пригодным для использования беременными женщинами и маленькими детьми. Несмотря на все положительные качества, сукралоза еще мало используется в пищевой промышленности, что связано с ее более высокой стоимостью по сравнению с другими искусственными подсластителями. Максимальная допустимая суточная доза составляет 700 мг (5-10 мг на 1 кг массы тела) [4].

Ксилит (Е-967; получают из кочерыжек кукурузы и шелухи хлопковых семян), $C_5H_{12}O_5$ (М.м. 152,15). Коэффициент сладости 1,0, то есть сладость ксилита равна сладости сахарозы (за коэффициент сладости, равный 1,0, принята сладость сахарозы). Суточная доза составляет не более 40-50 г в сутки. Бактериологическая стойкость и «некариесогенность» позволяют считать ксилит идеальным альтернативным сладким веществом для фармацевтической и пищевой отраслей промышленности. Энергетическая ценность почти такая же, как у обычного сахара, но в отличие от него ксилит улучшает состояние зубов, а потому входит в состав некоторых зубных паст и жевательных резинок. Предотвращает развитие кариеса, повышает секрецию желудочного сока, обладает желчегонным и слабительным действиями. Ксилит в натуральном виде встречается в небольших количествах во многих

фруктах и в ряде растений. Ксилит – нормальный промежуточный продукт обмена веществ. В организме человека в течение суток синтезируется и утилизируется от 5 до 15 граммов ксилита. Ксилит – пока единственное натуральное сладкое вещество, совершенно не вызывающее кариеса. Бактерии, обитающие в полости рта, пока еще не могут использовать его для выработки кислоты, разрушающей зубы [5].

Сорбит (Е - 420; многоатомный спирт и часто именуется как «Д-глюцид»), $C_6H_{14}O_6$ (М.м. 182,17). Коэффициент сладости 0,6. Поскольку сорбит не является углеводом, его можно использовать в диабетическом питании и при лечении ожирения. Научный комитет экспертов по пищевым добавкам Европейского союза присвоил ему статус пищевого продукта. Впервые его экстрагировал из рябины в 1872 году французский химик Ж. Бруссино и назвал сорбитом (рябина по-латыни «sorbus»). В природе Д-глюцид встречается в растениях в исключительно малых концентрациях, поэтому в больших количествах получают его путем гидрогенизации глюкозы, то есть насыщением ее атомами водорода при высоком давлении с участием катализатора. Сорбит совершенно не токсичен, сладок на вкус, поэтому рекомендован в качестве подслащивающей добавки к пище [6].

Фруктоза, $C_6H_{12}O_6$ (М.м. 180,16). Коэффициент сладости фруктозы составляет 1,2–1,7. Суточная доза не более 30–40 г в сутки. На 30 % менее калорийна, чем сахароза. В меньшей степени влияет на уровень сахара в крови, поэтому в умеренных количествах разрешена больным сахарным диабетом. Это один из немногих подсластителей, обладающих консервирующим свойством. Даже при полном переходе на фруктозу остается угроза возникновения ожирения, и прием этого углевода рассматривается как паллиативная мера. Фруктоза служит прекрасным заменителем сахарозы. Это один из важнейших натуральных сахаров, который содержится во всех сладких ягодах, фруктах и овощах, составляет примерно половину сухих веществ пчелиного меда и вместе с глюкозой образует молекулу сахарозы. Растворы фруктозы вращают поляризованный луч света влево, поэтому фруктозу еще называют левулезой. При гидролизе из нее получается смесь двух спиртов – сорбита и маннита. Фруктоза хорошо растворяется в

воде и этиловом спирте, плавится при температуре 102-105 °С, образует безводные кристаллы в виде игл. Если сладость сахарозы принять за единицу, то сладость фруктозы составит 1,73, глюкозы – 0,74, сорбита – 0,6, маннита – 0,4 [7]. Метаболизм фруктозы происходит быстро и не зависит от концентрации инсулина, который у страдающих сахарным диабетом или не выделяется или выделение его нарушено. Применение фруктозы у таких людей не вызывает выраженных изменений содержания сахара в крови и не влияет на компенсацию сахарного диабета. Положительным эффектом является снижение дозы инсулина у части обследованных лиц. При применении фруктозы в пищевом рационе снижается приблизительно на одну треть процент возникновения кариеса зубов, так как фруктоза образует на зубах меньше желтого налета, чем сахароза, а налет не содержит декстрана, который способствует развитию кариеса. При непереносимости сахарозы у детей подкармливать их лучше всего смесями, содержащими фруктозу [8].

Отизон – синтетический подсластитель, предложенный В.В. Яременко и соавторами в 1996 году. По данным автора, медико–биологические исследования не выявили негативного влияния отизона на организм человека. Допустимая суточная доза этого подсластителя для человека составляет 4,5 мг/кг массы тела, что по сладости эквивалентно потреблению 55 г сахара человеком с массой тела 60 кг [8].

К группе сладких веществ и потенциальных подсластителей относятся и так называемые «сладкие аминокислоты»: D-аланин, L-аланин, D-2-аминомасляная кислота, D-аспарагин, D-аспарагиновая кислота, бетаин, D-глутамин, глицин, D-гистидин, L-4-гидроксипролин, D-изолейцин, D-лизин, D-норлейцин, D-норвалин, D-орнитин, L-орнитин, D-фенилаланин, D-фенилглицин, L-пролин, D-серин, L-серин, D-треонин, L-треонин, D-триптофан, D-валин.

В качестве подсластителей также используются: полиолы или многоатомные спирты (основные – сорбитол и ксилитол), маннитол, изомальтулеза, палатинит (гидрогенизированная изомальтулеза), ликазин, нистоза, неотам (состоит из двух аминокислот: L-аспарагиновой и L-фенилаланина, в 30 раз слаще аспартама), алитам [8].

Натуральные подсластители

Получаемые из растений высокоинтенсивные подсластители: миракулин, глицирризин, тауматин, монеллин и др. Некоторые из них имеют сахарозный эквивалент, достигающий 2000-3000. Широкое использование большинства растительных подсластителей крайне ограничено из-за сравнительно незначительного ресурса исходного растительного сырья, высокой стоимости производства, малой стойкости к высоким температурам, некоторым органическим кислотам, наличия сопутствующего привкуса, недостаточной комплексной изученности медико-биологических свойств и другие.

Стевиозид – сладкое вещество, которое получают из южно-американского растения стевии (медовой травы). Он не только заменяет сахар, но и снижает концентрацию глюкозы в крови. Его можно применять даже в высоких дозах. Свежие листья стевии ненамного слаще сахара, в то время как высушенные слаще в 20-30 раз. В начале 30-годов XX столетия французские исследователи получили из листьев стевии белое кристаллическое вещество «стевиазид», в 300 раз более сладкое, чем сахар. Как показали последующие исследования, сладость листьев стевии определяется наличием в них органических соединений неуглеводной природы – дитерпеновых гликозидов. Проведенные в разных странах исследования показали, что стевия, помимо безвредности при длительном ее употреблении, обладает весьма ценными свойствами: иммуномодулирующими, антигипертензивными, бактерицидными, сахароснижающими, антиокислительными и другими полезными свойствами, положительно влияет на деятельность печени и поджелудочной железы, препятствует образованию язв желудочно-кишечного тракта, устраняет аллергические диатезы у детей, улучшает сон, повышает физическую и умственную работоспособность. Ацетилсалициловая кислота, бутадиион и другие противовоспалительные ЛС, принимаемые совместно со стевией, не оказывают неблагоприятного воздействия на стенки желудка. Используют стевию в виде порошка стевиозида, свежих или сухих листьев и экстрактов из них. Стевиозид находит широкое применение в пищевой промышленности. Сладкий порошок оказался незаменимым при произ-

водстве продуктов для больных сердечно-сосудистыми заболеваниями и болезнями, связанными с нарушением обмена веществ [9].

Тауматин – низкокалорийное сладкое вещество белковой природы. Получают с 1996 года из африканского ярко-красного фрукта катемфе. Сладость тауматина в 1600 раз выше, чем у сахарозы. Применяется в комбинации с другими подсластителями для приготовления пищевых продуктов, витаминов, жевательной резинки и других [10].

Изомальтит – также натуральный низкокалорийный подсластитель. Получают его из изомальта – вещества, содержащегося в сахарном тростнике, сахарной свекле и меде. Он на 40-60% менее сладок, чем сахар, обладает низким гликемическим индексом. Изомальтит стимулирует работу кишечника и может быть использован при приготовлении диабетических продуктов. Рекомендуемая доза изомальта в чистом виде – не более 30 г в сутки [10].

Глицирризин – природный подсластитель, получаемый из корня солодки голой. По предварительным данным, из 1 тонны корня солодки можно получить 150-200 кг подсластителя с сахарозным эквивалентом 50. Используют для приготовления шипучих напитков, пива, кваса, шоколада, пастилы. Применяется в качестве подсластителя и ароматизатора в пищевой промышленности при производстве халвы, конфет и т. д. Не растворим в холодной воде, но хорошо растворяется в горячей. Имеет специфический привкус и аромат [10].

Мальтит производят из мальтозы – солодового сахара, получаемого из крахмала (в основном из кукурузного или картофельного). Мальтит содержит меньше калорий, чем сахар и фруктоза, оказывает очень незначительное влияние на уровень сахара в крови [10].

Неогесперидин (цитроза) – низкокалорийное сладкое вещество, содержащееся в цитрусовых. Получают из кожуры горького (сивильского) апельсина. Неогесперидин известен с 1968 года. Он слаще сахарозы в 1500-1800 раз. Стабилен во внешней среде. Применяется для приготовления безалкогольных напитков, жевательной резинки, мороженого, джемов, мармелада, соков, зубной пасты [10].

В перспективе для производства ЛС могут быть использованы флавоноиды. Из-

вестно, что флавоноиды цитрусовых после специальной обработки приобретают сладкий вкус. К ним относятся гесперидин из апельсинов и лимонов, наригин из грейпфрутов, неогесперидин из севильских апельсинов. Из папоротника *Polipodium vulgare L.* выделен стероидный сапонин осладин, в 3000 раз превышающий по сладости сахарозу. Получен целый ряд еще малоизученных сладких веществ, например, из канифоли сосны, из листьев чая (филодульцин), из растения *Perilla nankinensis* (периальдегид), из фруктов «Лю Хан».

Ассортимент сахарозаменителей довольно велик и постоянно растет. Они содержатся во многих продуктах, в том числе и ЛС. Каждому сахарозаменителю присво-

ен шифр с впереди стоящей буквой E. Наличие такого обозначения говорит о том, что эта добавка разрешена к использованию. Прежде чем присвоить шифр, продукты проходят длительное тестирование. Но и позже, при появившемся подозрении на токсичность или канцерогенность, проводится соответствующая экспертиза, как это было с аспартамом, сахарином, цикламентом и сукралозой. При этом каждая страна сама решает, какие пищевые добавки следует исключить из рекомендованного списка.

Министерство здравоохранения Республики Беларусь определило перечень и количество подсластителей, допустимых в составе ЛС [11, 12], которые приведены в таблице.

Таблица – Перечень подсластителей, допустимых в составе ЛС в Республике Беларусь

Наименование	Шифр	Нормируемое количество
Сорбит	E 420	Не нормируется
Маннит	E 421	50 мг/кг/сутки
Ацесульфам калия	E 950	15 мг/кг/сутки (не используется в лекарственных средствах для детей)
Аспартам	E 951	40 мг/кг/сутки
Цикламовая кислота и ее натриевая и кальциевая соли	E 952	11 мг/кг/сутки
Сахарин и его натриевая, калиевая и кальциевая соли	E 954	5 мг/кг/сутки
Мальтит	E 965	Не нормируется

В пищевой промышленности Республики Беларусь, кроме вышеуказанных подсластителей, допустимы изомальтит (E953), сукралоза (E955), лактит (E966) и ксилит (E967) [12], а в пищевой промышленности стран таможенного союза – стевииолгликозиды (E960), сукралоза (E955, трихлоргалактосахароза), тауматин (E957), аспартам-ацесульфама соль (E962), эритрит (E968), неогесперидин дигидрохалкон (E959), неотам (E961) [13].

Довольно часто подсластители имеют иное торговое название, особенно если они представляют собой комбинацию веществ. Наиболее распространенными из них являются: «Милфорд» (смесь сахарина и цикламата); «Сладекс» (чистый аспартам); «Аргосластин» (смесь аспартама и ацесульфама, имеет приятный вкус и нулевую калорийность). «Сурельголд» – также смесь аспартама и ацесульфама, но в другой комбинации

составляющих, обладает низким коэффициентом сладости - в 4 раза ниже, чем у аргосластина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований проанализированы и обобщены литературные данные о подсластителях, применяемых в составе сиропов в Республике Беларусь.

Представлен перечень подсластителей, допустимых в составе ЛС в Республике Беларусь. Данный перечень определен Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

В составе лекарственных сиропов в качестве подсластителей применяются сорбит, маннит, ацесульфам калия, аспартам, цикламовая кислота и ее натриевая и калиевая соли, сахарин и его натриевая, калиевая и кальциевая соли, мальтит.

SUMMARY

U.A. Sheraykova, O.M. Khishova
SWEETENERS IN SYRUPS AND THEIR
CHARACTERISTICS

The article presents the summarized data from the literature on sweeteners used in the composition of syrups. It is shown that in the composition of syrups can be used both synthetic and natural sweeteners.

Keywords: sweeteners, syrups, drug.

ЛИТЕРАТУРА

1. Германюк, Я.Л. Искусственные заменители сахарозы при заболеваниях с нарушенным углеводным и липидным обменом /Я.Л. Германюк //Врачеб. дело, 1986. – № 8. – С. 63–67.

2. Антипова, Л.В. Получение пищевых продуктов, ингредиентов, материалов на основе биокаталитических процессов обработки коллагенсодержащих животных тканей /Л.В. Антипова //М.: Агропромиздат, 2008. – С. 54 – 75.

3. Rowe, R.C. Handbook of Pharmaceutical Excipients / R.C. Rowe, P.J. Sheskey, M.E. Quinn //6ed. – AphA, Pharmaceutical Press (PhP), London – Chicago, 2001. – 888р.

4. Нечаев, А.П. Пищевые добавки /А.П. Нечаев //М., МКИ, 2001. – 150 с.

5. Выглазов, В.В. Технология высококачественного ксилита и других полиолов на основе пентозансодержащего растительного сырья: дис. ...д-ра технических наук: 05.21.03. /В.В. Выглазов. – Санкт-Петербург, 2004. – 443 л.

6. Большая медицинская энциклопедия /Гл. ред. Петровский Б.В. – 3-е изд., М.: Советская энциклопедия, 1984. – Т. 23. – С. 527.

7. Малютенкова, С.М. Товароведение и экспертиза кондитерских товаров: учеб. пособие /С.М. Малютенкова // СПб.: Питер, 2004. – 480 с.

8. Вечер, Н.С. Разработка технологии, биофармацевтические исследования и стандартизация сорбитовых сиропов: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01. / Н.С. Вечер. – Витебск, 2002. – 128 л.

9. Корочкина, Г.М. Синтез, антимикробная и противогрибковая активность производных дитерпеноида изостевиола

и гликозида стевиолбиозида, содержащих ониевого атома азота / Г.М. Корочкина [и др.] //Химико–фармацевтический журнал : научно–технический и производственный журнал. – 2010. – Том 44, N 11. – С. 10–13.

10. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 08.05.2009 г. №52, в ред. Постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 20.11.2009 г. №129, от 13.09.2010 г. №124 «О требованиях к документам на лекарственные средства, фармацевтические субстанции, заявляемые на государственную регистрацию (перерегистрацию), и документам, представляемым для внесения изменений в регистрационное досье на лекарственное средство (фармацевтическую субстанцию), ранее зарегистрированное в Республике Беларусь, и о признании утратившим силу Постановления Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21 ноября 2008 г. №199» // Перечень подсластителей и синтетических органических красителей, допустимых в составе лекарственных средств.

11. Постановление Главного государственного санитарного врача Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.11.2002 г. №94 «Об утверждении санитарных правил и норм «Гигиенические требования к качеству и безопасности пищевых добавок и их применению».

12. Гигиенические регламенты применения подсластителей (приложение №13) // Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) / Утверждены решением комиссии Таможенного союза от 28.05.2010 г. №299.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра промышленной технологии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-00-13,
Хишова О.М.

Поступила 20.05.2014 г.

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ!

Журнал «Вестник фармации» является рецензируемым изданием, включенным в утвержденный Высшей аттестационной комиссией Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований по фармацевтической отрасли науки. Журнал печатает полноразмерные оригинальные статьи, обзоры, краткие сообщения, рекомендации практическим работникам аптек.

Рукописи статей рецензируются независимыми экспертами. Специалисты, осуществляющие рецензирование, назначаются редакционной коллегией журнала.

Научные статьи аспирантов последнего года обучения при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым редакцией, публикуются вне очереди. Редакция не взимает плату за опубликование научных статей, в том числе и при внеочередной публикации статей аспирантов, докторантов, соискателей.

Объем научной статьи должен составлять не менее 0,35 авторского листа (14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и др.).

Полноразмерная статья должна состоять из следующих разделов:

- *Название статьи*, которое должно отражать основную идею выполненного исследования, быть по возможности кратким, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

- *Аннотация* на русском языке (100-150 слов), которая должна ясно излагать содержание статьи и быть пригодной для опубликования в аннотациях к журналам отдельно от статьи.

- *Ключевые слова*.

- *Введение*, в котором должен быть дан краткий обзор литературы по данной проблеме, указаны не решенные ранее вопросы, сформулирована и обоснована цель работы и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Во введении следует избегать специфических понятий и терминов. Содержание введения должно быть понятным также и неспециалистам в соответствующей области.

- *Материалы и методы*, где приводится описание методики, аппаратуры, объектов исследования и подробно освещается содержание исследований, проведенных автором.

- *Результаты и обсуждение*. Полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

- *Заключение*, в котором в сжатом виде должны быть сформулированы основные полученные результаты с указанием их новизны, возможностей применения, четко сформулированы выводы.

- *Аннотация* на английском языке, содержащая фамилию и инициалы автора (авторов) статьи, ее название, ключевые слова.

- *Литература*. Обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

На отдельной странице следует указать:

- фамилии и инициалы всех авторов, их место работы, занимаемые должности;

- почтовый, электронный адрес и телефон того автора, с кем следует вести редакционную переписку;

- контактную информацию (почтовый, электронный адрес и номера телефонов), которую авторы разрешают опубликовать вместе со статьей в разделе «Адрес для корреспонденции».

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена автором. Статьи принимаются только с визой руководителя и при наличии экспертного заключения о возможности опубликования материалов в печати и других средствах массовой информации.

В статье должна использоваться система единиц СИ. Желательно использовать общепринятые сокращения.

За правильность приведенных данных ответственность несут авторы. Направление в редакцию работ, ранее опубликованных в других изданиях, не допускается.

Правила оформления статьи для публикации в журнале «Вестник фармации»:

1. Материалы в редакцию представляются на бумажном носителе в 2-х экземплярах и в электронном виде. Текст должен быть набран в Microsoft Word.

2. Формат страниц А4. Поля по периметру 20 мм. Страницы не нумеруются.

3. Основная часть статьи может делиться на подразделы (с разяснительными заголовками).

4. Таблицы и рисунки должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте. В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений. Размер таблицы, по возможности, не должен превышать одной страницы. Рисунки и подписи на них должны быть четкими и хорошо читаемыми (шрифт Times New Roman, 10-12 пт.). На рисунках и диаграммах запрещается использовать жирный шрифт и курсив.

5. Список использованной литературы оформляется в соответствии с ГОСТом 7.1-2003. Ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок в тексте должны быть написаны внутри квадратных скобок (например, [1]).

6. Статья оформляется следующим образом:

- Инициалы, фамилии авторов - шрифт Times New Roman, 11 пт, жирный;
- название статьи – шрифт Times New Roman, 12 пт, жирный, прописными буквами;
- учреждение - шрифт Times New Roman, 12 пт;
- названия разделов статьи - шрифт Times New Roman, 12 пт, прописными буквами,

курсив, по центру строки;

- текст статьи - шрифт Times New Roman, 12 пт;
- межстрочный интервал – одинарный;
- красная строка – 1,25 см.

Пример оформления таблицы:

Таблица 1 – Технологические свойства таблеточных смесей

Примечание: * -

Пример оформления рисунка:



Рисунок 1 – Влияние давления прессования на распадаемость таблеток

Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

ПРИ НАРУШЕНИИ УКАЗАННЫХ ПРАВИЛ СТАТЬИ НЕ РАССМАТРИВАЮТСЯ.

РЕДАКЦИЯ НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ
ЗА СОДЕРЖАНИЕ РЕКЛАМНЫХ МАТЕРИАЛОВ.

Вниманию рекламодателей!

В соответствии с постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 23 июля 2013 г. №63 «О некоторых мерах по реализации статей 15 и 15¹ Закона Республики Беларусь от 10 мая 2007 года «О рекламе» и признании утратившими силу некоторых постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь» ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал «Вестник фармации» включен в Перечень специализированных печатных изданий, в которых осуществляется размещение (распространение) рекламы лекарственных средств, методов оказания медицинской помощи, работ и (или) услуг, составляющих медицинскую деятельность, изделий медицинского назначения и медицинской техники без согласования с Министерством здравоохранения Республики Беларусь, а также рекламы лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники, потребителями которой являются исключительно медицинские или фармацевтические работники, не содержащей рекомендации о необходимости ознакомления с инструкцией по медицинскому применению и (или) консультации с врачом.

Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал «Вестник фармации» включен в Российский индекс научного цитирования. Ознакомиться с материалами журнала можно на сайте Научной электронной библиотеки по адресу www.elibrary.ru.

«ВЕСТНИК ФАРМАЦИИ», 2 (64) 2014

Регистрационный номер: 112
Подписные индексы: для организаций – 001402
для индивидуальных подписчиков – 00140

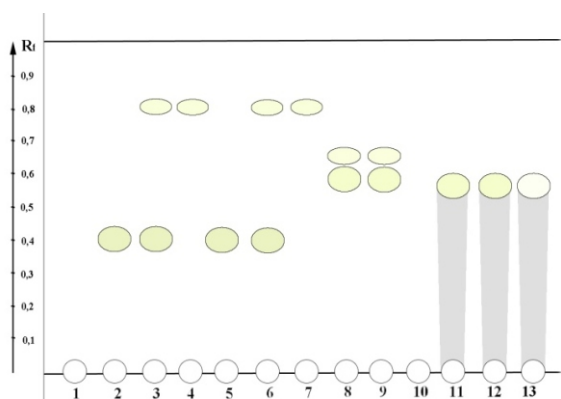
**Витебский государственный медицинский университет
210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, тел. (8-0212) 60-14-08
admin@vgmu.vitebsk.by
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013**

Секретарь Е.В. Игнатьева
Компьютерная верстка и дизайн Г.Н. Котович, О.А. Сушко
Корректор В.А. Стадник

Подписано в печать: 27.06.2014. Формат 1/8.
Бумага типографская №2. Гарнитура Times. Усл. печ. листов 12,3
Уч.-изд. л. 8,8. Тираж 120 Заказ № 535

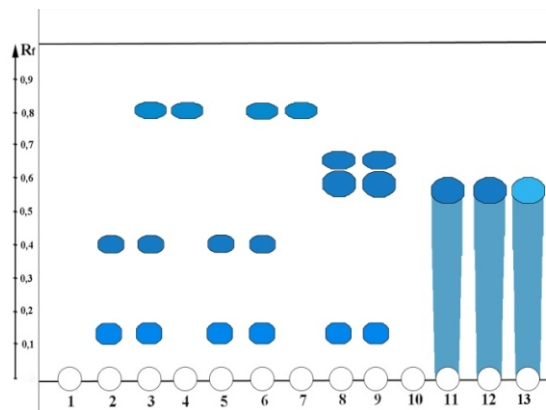
Отпечатано на ризографе в Витебском государственном медицинском университете
210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27. Тел. (8-0212) 60-14-52

При использовании материалов журнала
ссылка на «Вестник фармации» обязательна



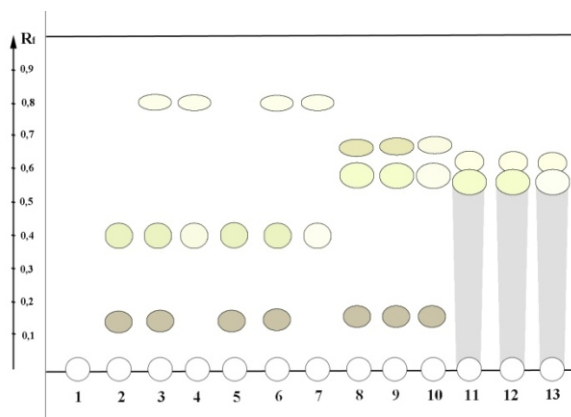
Обозначения: в соответствии с таблицей 1.

Рисунок 1 – Схема хроматографического разделения веществ побегов черники обыкновенной, листьев толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной в системе н- бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2 об/об/об) в присутствии РСО арбутина при просмотре при дневном свете



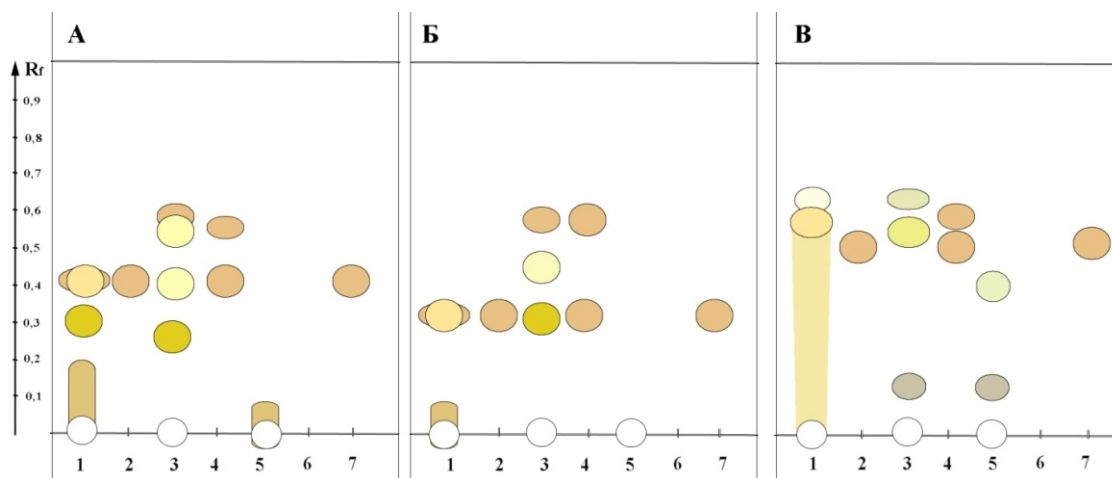
Обозначения: в соответствии с таблицей 1.

Рисунок 2 – Схема хроматографического разделения веществ побегов черники обыкновенной, листьев толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной в системе н- бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2 об/об/об) в присутствии РСО арбутина (УФ-254 нм)



Обозначения: в соответствии с таблицей 1.

Рисунок 3 – Схема хроматографического разделения веществ побегов черники обыкновенной, листьев толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной в системе н- бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2 об/об/об) в присутствии РСО арбутина после обработки раствором диазобензолсульфокислоты



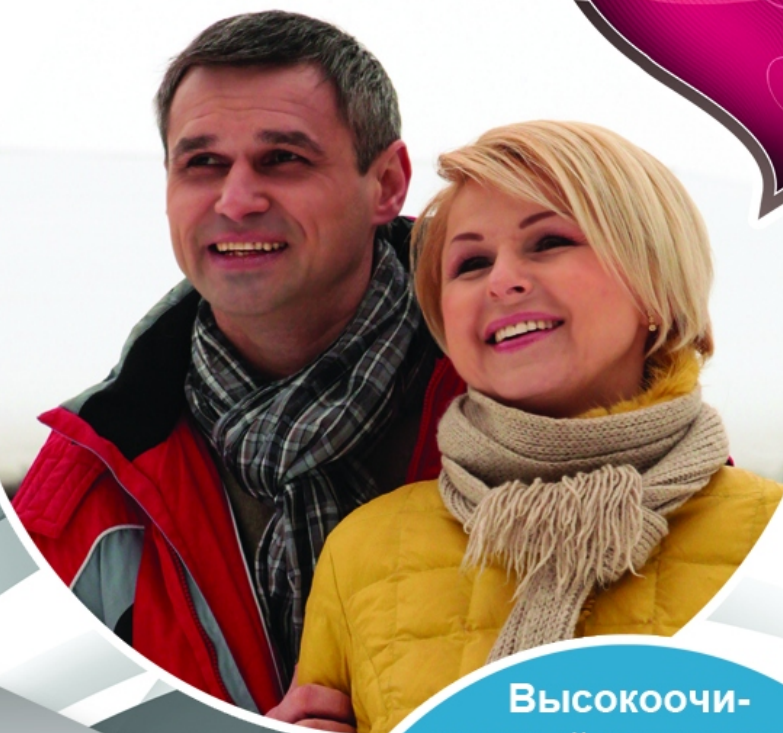
Обозначения: 1 – извлечение из листьев толокнянки до фильтрования через слой алюминия оксида; 2 – извлечение из листьев толокнянки после фильтрования через слой алюминия оксида; 3 – извлечение из листьев брусники до фильтрования через слой алюминия оксида; 4 – извлечение из листьев брусники после фильтрования через слой алюминия оксида; 5 – извлечение из побегов черники до фильтрования через слой алюминия оксида; 6 – извлечение из побегов черники после фильтрования через слой алюминия оксида; 7 – государственный стандартный образец арбутина.

Рисунок 4 – Хроматограммы и схемы разделения извлечений из листьев толокнянки, брусники и побегов черники на этиловом спирте 70% до и после твердофазной экстракции в разных системах растворителей: А – подвижная фаза: хлороформ – спирт этиловый 96% (6:4 об/об); Б – подвижная фаза: хлороформ – спирт этиловый 96% – вода (26:16:3 об/об/об); В – подвижная фаза: н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2 об/об/об)

УП «МИНСКИНТЕРКАПС»

ОМЕКОРД-МИК

ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЕ
СРЕДСТВО



Состав на одну капсулу:
Омега-3-кислот
этиловых эфиров - 500 мг
(этилового эфира эйкозапента-
таеновой кислоты - 46%,
этилового эфира докозагекса-
ееновой кислоты - 38%)
вспомогательные вещества

- Высокоочищенный концентрат Омега-3-кислот этиловых эфиров – 500 мг (эйкозапентаеновой кислоты 46%, докозагексаеновой кислоты 38%)
- Снижает уровень триглицеридов и холестерина в плазме крови
- Сырье для производства лекарственного средства закупается в Южной Корее

* НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

www.mic.by

УВЕРЕННАЯ ЗАЩИТА СЕРДЦА И СОСУДОВ!

ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ