

Рекомендована д.ф.н., професором П.Д.Пашневим

УДК 615.451.16:638.1:577.161.3

ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДУ ТОКОФЕРОЛІВ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ФАРМАКОЛОГІЧНУ ДІЮ НАСТОЙКИ “ГРЕТАВОСК”

О.Є.Богущька

Національний фармацевтичний університет

Розроблені раціональні методи аналізу токоферолів. Методом газорідинної хроматографії визначено вміст токоферолів, які входять до складу настойки “Гретавоск”, та їх вплив на фармакологічну дію лікарського препарату. Встановлено, що до складу препарату входять у різних кількостях α , β , γ , δ -токоферолі.

Токоферолі — сполуки природного походження, які беруть участь в обміні речовин, тому необхідні для життєдіяльності організму. Розрізняють 7 токоферолів, що позначаються грецькими літерами α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η . Токоферолі вперше були виділені в 1936 р. Evans і Emerson [1, 4].

Токоферолі відрізняються за кількістю і місцем приєднання метильних груп (рис. 1). Основою всіх токоферолів є хроманольне кільце, до якого приєднані різні хімічні радикали:

- гідроксильна група, яка легко віддає атом водню в реакціях і захищає інші органічні речовини від окиснювання;
- гідрофобний вуглеводневий ланцюг, який сприяє проникненню сполук крізь біологічні мембрани (в токотриєнолах на відміну від токоферолів він містить подвійний зв'язок);
- відсутність, дві або три метильні групи, розташування яких впливає на біологічну дію сполуки.

Токоферолі, а також відповідні їм сполуки токотриєноли, є біологічно активними речовинами і в сукупності носять назву “Вітамін Е” [3].

Токоферолі являють собою прозорі маслянисті рідини, розчинні лише в органічних розчинниках, стійкі до дії лугів і кислот. Вітамін Е термостабільний, руйнується під впливом ультрафіолетового проміння [2].

За біологічною дією токоферолі підрозділяються на речовини вітамінної та антиокиснювальної активності. Максимальну вітамінну активність проявляє α -токоферол. У порівнянні з α -токоферолами біологічна активність β -токоферолу — 40%, γ -токоферолу — 8%. Інші форми малоактивні. Найбільшу антиокиснювальну дію проявляє δ -токоферол, найменшу — α -токоферол.

Токоферолі поширені в природі, вони входять до складу різних рослин. У живих організмах токоферолі не синтезуються, тому люди їх одержують з їжею (зелені боби і горох, салати, кукурудза, овес, жито та ін.). Найбільш багаті на вітамін Е зародки насіння злаків, кукурудзи, пшениці. Основними джерелами токоферолів є неочищені рослинні олії (кунжутна, соєва, бавовняна, кукурудзяна, конопляна, соняшникова, арахісова, олії обліпихи, шипшини) [1, 4].

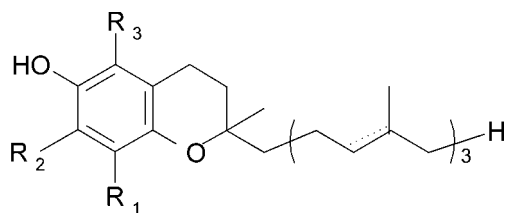
На добу людині потрібно 12-15 мг вітаміну Е. Його кількість необхідно збільшувати при вживанні жирної їжі, в період вагітності, при грудному вигодовуванні, інтенсивних фізичних навантаженнях, в раціоні людей похилого віку [4].

Вітамін Е відіграє важливу роль у діяльності центральної і периферичної нервової системи. Токоферолі широко використовуються у фармакотерапії різних захворювань. Вони необхідні для нормального перебігу вагітності і народження потомства, підтримують сперматогенез, регулюють діяльність статевих гормонів, покращують імплантацію і здатність до розвитку заплідненої яйцеклітини в матці. Токоферолі використовуються для профілактики і лікування серцево-судинних захворювань, атеросклерозу, а також в якості антиоксидантів [5].

Метою нашої роботи стала розробка методик якісного та кількісного аналізу токоферолів у настійці “Гретавоск”, а також вивчення впливу біологічно активних сполук на фармакологічну дію розробленого препарату.

Експериментальна частина

Склад токоферолів вивчали методом газорідинної хроматографії [2, 11]. До 5 мл настійки “Гретавоск” додавали 3 г гексану для екстракції всіх ліпідних комплексів і центрифугували при швидкості 3 тис. об/хв. Відбирали верхній гексановий шар, який потім пропускали крізь фільтр з сухою кремнієвою кислотою. З метою екстракції токоферолів із фільтра застосовували 10% етилацетат в октані. Елюент збирали в реакційну пробірку і випарювали до сухого стану в потоці азоту при 60°C. До сухого залишку додавали 0,1 мл триме-



α -tocopherol: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 α -tocotrienol: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 γ -tocopherol: $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$; $R_3 = \text{H}$
 γ -tocotrienol: $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$; $R_3 = \text{H}$
 β -tocopherol: $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{H}$
 β -tocotrienol: $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{H}$
 δ -tocopherol: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$
 δ -tocotrienol: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$

Рис. 1. Структура токоферолів.

тилхлорсилану в піридині. Дериватизацію проводили при 80°C протягом години. Потім проводили метилювання. Для цього додавали 5 мл 1% кислоти сірчаної в метанолі на 30 хв при 80°C . Після чого додавали 2 мл води очищеної та екстрагували токоферолі сумішшю гексан-хлороформ у співвідношенні 1:1. Органічний шар відбирали в центрифужну пробірку, в якій випарювали до сухого стану при 60°C в потоці азоту. До сухого залишку додавали 0,5 мл гексану, аліквоту якого і вводили в хроматограф.

Газохроматографічний аналіз виконували на приборі Хром-5 при наступних умовах: довжина колонки складала 2 м, вона була заповнена Хроматоном-Супер з нанесенням на його поверхню 3% ОУ-17. Швидкість газу-носія азоту високої чистоти — 50 мл/хв, водню — 30 мл/хв, повітря — 300 мл/хв. Температура нагріву колонки — 200°C , випарювача — 230°C , вогняно-іонізаційного детектора — 250°C . Час аналізу — 15 хв. Чутливість методу — 10^{-3} мкг в аналізованому об'ємі.

Якісний аналіз виконували під час виходу кожної сполуки окремо в порівнянні з чистими стандартними зразками.

Кількісний вміст визначали за каліброваними сумішами, а також по кожній сполуці окремо. За отриманими даними будували калібрувальний графік, за яким виявляли концентрацію токоферолів.

Результати та їх обговорення

Склад і вміст токоферолів у досліджуваному препараті наведено на рис. 2. Проведені дослідження свідчать про наявність у настойці "Гретавоск" токоферолів. У максимальній кількості виявлено δ -токоферолі (684 мкг/мл). Отримані дані свідчать про присутність у препараті антиоксидативної дії. Крім того, в настойці наявні α -токоферолі (214 мкг/мл), які відповідають за вітамінну активність токоферолів. Сумарна кількість β - + γ -

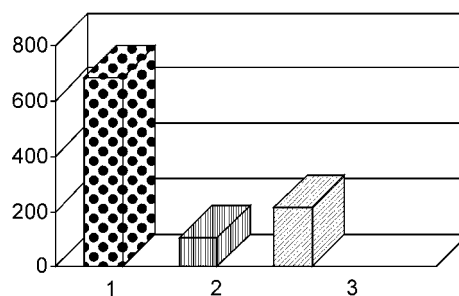


Рис. 2. Порівняльний аналіз токоферолів у настойці "Гретавоск" (мкг/мл).

1. δ токоферол; 2. β + γ токоферолі; 3. α токоферол.

токоферолів складає 106 мкг/мл. В якості природного антиоксиданта вітамін Е використовується для стабілізації жиророзчинних вітамінів А і D, що легко окиснюються. Токоферолі сприяють їх накопиченню у внутрішніх органах.

Таким чином, до складу настойки входить значна кількість токоферолів, наявність яких у настойці може позитивно впливати зокрема на лікування туберкульозу [8, 9, 10]. Можливим механізмом фармакологічної дії настойки є здатність токоферолів пригнічувати активність білковорозщеплюючих ферментів (трипсин) [4].

За даними літератури препарати, які містять токоферолі, можуть застосовуватися для лікування запальних процесів і попередження передчасного старіння організму [7]. Експериментальними дослідженнями на моделі карагенінового набряку у щурів доведено, що настойка "Гретавоск" проявляє протизапальну дію. Токоферолі позитивно впливають на серцево-судинну систему, тому є доцільним їх вивчення у подальших дослідженнях фармакологічної дії розробленого препарату на дану групу захворювань, а також при атеросклерозі. Токоферолі регулюють окиснювальні процеси в організмі [6], тому препарат можна застосовувати в якості антиоксиданта. За рахунок антиоксидантної активності токоферолі можуть забезпечувати стабільність настойки "Гретавоск" при зберіганні.

За кількісним вмістом токоферолів настойку "Гретавоск" можна порівняти з природними продуктами, що містять значну кількість токоферолів (олії злаків та ін.) [1, 3].

ВИСНОВКИ

1. У настойці "Гретавоск" виявлена значна кількість α , β , γ , δ -токоферолів, присутність яких у препараті сприяє його протизапальній дії, що позитивно впливає на лікування туберкульозу.

2. Проведені експериментальні дослідження якісного складу токоферолів свідчать про наявність у настойці "Гретавоск" антиоксидантної активності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Березин Т.Г., Коровин Б.Ф. Биологическая химия / Под ред. С.С.Дебова. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1990. — 528 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Х.: РИРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Надиров Н.К. Токоферолы — биологически активные вещества. — М.: Знание, 1981. — 64 с.
4. Привалова Э.Г., Никитюк В.Г. // Провизор. — 1999. — №13. — С. 36-37.
5. Сергеев П.В., Галенко-Ярошевский П.А., Шимановский Н.Л. Очерки биохимической фармакологии. — М.: РЦ “Фармединфо”, 1996. — 384 с.
6. Roles of antioxidant vitamins in chronic disease prevention // 85-th AOCS Annu. Met. and Relat. Mater. — 1994. — №4. — P. 487.
7. Teoria i praktyka wytwarzania leczniczych preparatow propolisowych / A.I.Tikhonow, T.G.Jarnych, W.P.Czernych i dr.; Pod red. akad. A.I.Tikhonowa. — Polska, Krakow, drukarnia “Marka”, 2006. — 274 s.
8. Tikhonov A.I., Shpichak O.S., Bogutskaya E.E. // International Scientific Conference “Pharmacy in contemporary society”. Kaunas. — lapkricio 21 d. — 2003. — P. 89-92.
9. Tikhonov A.I., Yarnykh T.G., Shpichak O.S., Bogutskaya E.E. // XX Naukowy zjazd polskiego towarzystwa farmaceutycznego pod honorowym patronatem ministra zdrowia Streszczenia. — T. I. — Katowice, Spodek. 25-28 wrzesnia. — 2007. — S. 340.
10. Treatment of tuberculosis: guidelines, for national programs. — Geneva: WHO, 1993. — 49 p.
11. USP Pharmacists Pharmacopoeia. — 2-nd ed. — Rockville: The United State Pharmacopoeial, inc., 2008. — 1519 p.

УДК 615.451.16:638.1:577.161.3

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ТОКОФЕРОЛОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАСТОЙКИ “ГРЕТАВОСК”

Е.Е.Богущая

Разработаны рациональные методы анализа токоферолов. Методом газохроматографии установлено содержание токоферолов, входящих в состав настойки “Гретавоск”, и их влияние на фармакологическое действие лекарственного препарата. Препарат содержит в различных количествах α , β , γ , δ токоферолы.

UDC 615.451.16:638.1:577.161.3

DETERMINATION OF THE TOCOPHEROL COMPOSITION AND THEIR INFLUENCE ON THE PHARMACOLOGICAL ACTION OF “GRETAVOSK” TINCTURE

O.Ye.Bogutskaya

The rational methods of tocopheroles analysis have been developed. By the method of gas-liquid chromatography the content of tocopherols, which are in the composition of “Gretavosk” tincture and their influence on the drug pharmacological activity have been determined. The medicine contains α , β , γ , δ tocopherols in different amount.