

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
факультет по подготовке иностранных граждан
кафедра фармацевтической химии**

КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**по теме: «РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАНГИФЕРИНА»**

Выполнил: соискатель высшего образования
группы Фм18(5,0д)i-11
специальности 226 Фармация, промышленная фармация
образовательной программы Фармация
Рания ХИЗРИ

Руководитель: доцент заведения высшего образования
кафедры фармацевтической химии, к.фарм.н., доцент
Наталия БЕВЗ

Рецензент: доцент заведения высшего образования кафедры
медицинской химии, к.фарм.н., доцент Ирина СЫЧ

Харьков – 2023 год

АННОТАЦИЯ

Работа посвящена разработке методик идентификации и количественного определения мангиферина в субстанции. Идентификацию вещества предложено проводить химическими реакциями и методом тонкослойной хроматографии. Для количественной оценки мангиферина подобраны условия спектрофотометрического определения: растворитель, аналитическая длина волны, подчиняемость растворов вещества основному закону светопоглощения, рассчитан удельный показатель поглощения.

Работа состоит из введения, трех глав, общих выводов и списка использованной литературы. Содержание работы изложено на 42 страницах машинописного текста, содержащем 3 таблицы, 7 рисунков и 3 схемы.

Ключевые слова: мангиферин, идентификация, количественное определение, абсорбционная спектрофотометрия.

ANNOTATION

This work is devoted to the development of methods for the identification and quantitative determination of mangiferin in the substance. Identification of the substance is proposed to be carried out by chemical reactions and by thin-layer chromatography. For the quantitative analysis of mangiferin, the conditions for spectrophotometric determination were selected: solvent, analytical wavelength, subordination of substance solutions to the basic law of light absorption, and the specific absorbance was calculated.

The work consists of an introduction, three chapters, general conclusions and a list of references. The content of the work is presented on 42 pages of typewritten text containing 3 tables, 7 figures and 3 schemes.

Key words: mangiferin, identification, quantification, absorption spectrophotometry.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
РАЗДЕЛ 1. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАНГИФЕРИНА (Обзор литературы)	7
1.1 Синтез и метаболизм мангиферина	10
1.2 Анализ фармацевтического рынка	13
1.3 Методы анализа мангиферина	16
Выводы	20
РАЗДЕЛ 2. МЕТОДИ АНАЛИЗА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ	21
2.1 Тонкослойная хроматография (ТСХ)	21
2.2 Спектрофотометрия	24
2.1.1 Абсорбционная спектрофотометрия	26
Выводы	28
РАЗДЕЛ 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАНГИФЕРИНА (Экспериментальная часть)	29
Выводы	40
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	43

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время перспективной субстанцией природного происхождения является мангиферин, впервые выделенный из листьев и коры дерева манго (*Mangifera indica* L.). Многочисленные исследования показали, что лекарственным растительным сырьем, богатым мангиферином, являются надземные части растений рода копеечник, *Iris unguicularis*, корневища *Anemarrhena asphodeloides* и листья *Bombax ceiba*. Встречается вещество в родах *Salacia* и *Cyclopia*, а также в кофейных листьях и некоторых видах крокусов.

Мангиферин в экспериментальных исследованиях проявил антиоксидантные, противовоспалительные, противовирусные свойства и используется для лечения герпеса и других вирусных заболеваний, чаще входит в состав диетических добавок. Экспериментальные исследования свидетельствуют о способности мангиферина влиять на различные виды онкологических заболеваний человека, включая рак легких, толстой кишки, молочной железы и нейронов. Кроме того, мангиферин повышает способность системы моноцитов-макрофагов и обладает антибактериальной активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Отсутствие монографии «Мангиферин» в фармакопеех мира, делает соединение перспективным для изучения возможных методик идентификации и количественного определения для последующего внедрения в фармацевтическую практику.

Цель исследования. Разработать методики идентификации и количественного определения мангиферина в субстанции.

Задачи исследования. Для разработки методик контроля качества мангиферина и дальнейшего их использования в фармацевтической практике решали задачи в следующей последовательности:

1. Рассмотреть и обобщить данные научной литературы по фармакологической активности, методам синтеза и анализа мангиферина.
2. Провести анализ фармацевтического рынка о наличии препаратов с активным фармацевтическим ингредиентом мангиферин на фармацевтическом рынке Украины.
3. Изучить физико-химические свойства и существующие методы анализа мангиферина в субстанции и в лекарственном растительном сырье.
4. Изучить особенности инструментальных методов анализа, используемых в работе.
5. Учитывая физико-химические свойства мангиферина, разработать методики идентификации в субстанции.
6. Разработать спектрофотометрическую методику количественного определения мангиферина.

Объект исследования. Объектом исследования выбран мангиферин

Предмет исследования. Разработка методики идентификации мангиферина методом тонкослойной хроматографии и использование метода абсорбционной спектрофотометрии для идентификации и количественного определения исследуемого вещества.

Методы исследования. Тонкослойная хроматография, абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области, статистический анализ результатов химического эксперимента, метрологическая характеристика предложенных методик.

Практическое значение полученных результатов. Разработанные методики идентификации мангиферина методами тонкослойной хроматографии и абсорбционной спектрофотометрии, и спектрофотометрическая методика количественного определения могут в дальнейшем использоваться в фармацевтическом анализе.

Апробация результатов исследования и публикации. Результаты работы были опубликованы на международной internet-конференции «Modern chemistry of medicines» 2023 в виде тезисов.

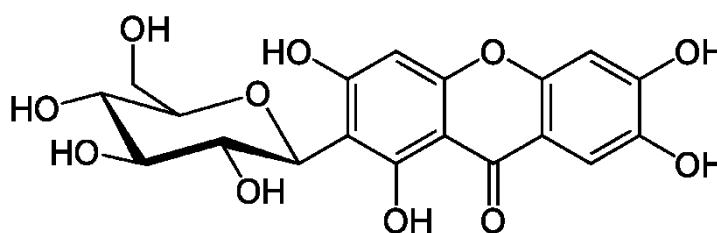
Структура и объем квалификационной работы. Работа состоит из введения, трех глав, общих выводов и списка использованных литературных источников. Содержание работы изложено на 42 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы, 7 рисунков и 3 схем.

РАЗДЕЛ 1
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ МАНГИФЕРИНА
(Обзор литературы)

Мангиферин, также известный как алпизарин или хиномин, принадлежит к группе органических соединений класса ксантонов. До 1960-х годов его структура оставалась неизвестной. Лишь недавно был проведен рентгеноструктурный анализ мангиферина. Это полифенол, связанный с остатками глюкозы аномальной связью С-С [1,2].

Мангиферин

Mangiferin



$C_{19}H_{18}O_{11}$

М.м. 422.34

1,3,6,7-Тетрагидрокси-2-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил]-9Н-ксантен-9 -один или
1,3,6,7-тетрагидрокси-ксантон-С2-β-d глюкозид

Мангиферин (2-С-β-D-глюкопиранозил-1,3,6,7-тетрагидрокси-ксантон) представляет собой глюкозилксантон (ксантоноид). Эта молекула представляет собой глюкозид норатириола.

Хотя структура вещества напоминает бифлавоны, С-глюкозилксантон (мангиферин) имеет большое питательное и медицинское значение благодаря своим уникальным структурным характеристикам. С-гликозидное звено мангиферина, имитирующее нуклеофильное замещение фторглюцина, способствует его биодоступности, а также отвечает за его антиоксидантные свойства. Исследователи также использовали его ксантоновую основу как

фармакофорную для синтеза перспективных замещенных соединений. На сегодняшний день получено более 500 производных с использованием около 80 реакций. Эти реакции включают: перекисное окисление липидов, фосфорилирование, гликозилирование, метилирование, ферментацию, дегликозилирование, гидролиз, полимеризацию, сульфатирование, ацилирование, этерификацию, перекисное окисление и другие. Многочисленные исследования эффективности и безопасности увеличили глобальный спрос на пищевые добавки на основе мангиферина [3].

Мангиферин – светло-желтый мелкокристаллический порошок, хорошо растворим в метаноле, спирте, щелочах и нерастворим в воде, эфире и хлороформе.



В молекуле мангиферина четыре ароматические гидроксильные группы определяют его значительные антирадикальные и антиоксидантные свойства. Мангиферин также является эффективным хелатором железа, поэтому предотвращает образование гидроксильного радикала в реакциях типа Фентона [4].

Мангиферин представляет собой полифенол, обнаруженный во многих видах растений, в частности из семейств *Anacardiaceae* и *Gentianaceae*.

В 1908 году мангиферин был впервые выделен из листьев и коры *Mangifera indica* (мангового дерева). В манго мангиферин жизнеспособен в виде кристаллов в листьях, сердцевинах и коже ствола, а также в стручках и семенах плодов. Его также можно извлекать из *Iris unguicularis*, корневищ *Anemarrhena asphodeloides* и листьев *Bombax ceiba*. Встречается вещество в родах *Salacia* и *Cyclopia*, а также в кофейных листьях и некоторых видах крокусов [5].

Среди группы гибридов *Asplenium*, известной как «*Appalachian Asplenium complex*», мангиферин и изомангиферин продуцируются только *Asplenium montanum* и его гибридными потомками. Отличительная золотисто-оранжевая флуоресценция этих соединений в ультрафиолетовом свете использовалась для облегчения хроматографической идентификации гибридов *Asplenium* [6].

Мангиферин присутствует не только в повседневных продуктах, но и используется в ряде натуральных лекарств. В традиционной медицине различные культуры выращивали и получали растения, богатые мангиферином, для лечения ряда заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания, диабет, инфекции и рак. В Индии практикующие аюрведы использовали *Salicia chinesis* (saptarangi) и *Mangifera indica* (манго), которые представляют собой два вида с высоким содержанием мангиферина. *Salicia chinesis* используется из-за ее гиполипидемических, антидиабетических, гепатопротекторных и антиоксидантных свойств [7-12].

Mangifera indica используется не только в аюрведической медицине, но и в официальной медицине на Кубе, в Китае и во всей Восточной Азии благодаря своим противовоспалительным, противовирусным, противодиабетическим и противораковым свойствам. *Mangifera indica*, семейства *Gentianaceae*, содержит мангиферин в коре (18,33 г/кг сухого веса), листьях (старые листья 36,9 г/кг), молодых листьях (58,12 г/кг сухой массы), корнях вместе с семенем и мякотью (от 0 до 2,65 мг/кг сухой массы в зависимости от сорта) и кожурой плодов (4,94 г/кг сухого веса). Однако концентрация мангиферина в мякоти вряд ли будет достаточной для обеспечения значительной пользы для здоровья и может сильно варьировать в зависимости от сорта и зрелости плода [13-20].

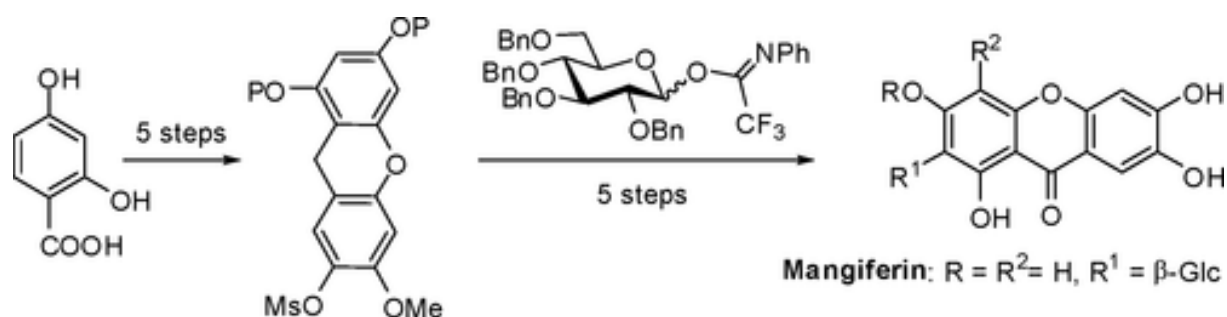
Многочисленные опубликованные фармакологические исследования *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали такие виды действия мангиферина: анальгетическое, противодиабетическое, антисклеротическое, противомикробное и противовирусное, кардио-, гепато- и нейропротекторное,

противовоспалительную, противоаллергическое, ингибирующее MAO и улучшающее память, а также радиозащитную активность против рентгеновского, гамма- и УФ-излучения. Несколько исследований показали также его способность ингибировать канцерогенез и рост раковых клеток путем индукции апоптоза *in vitro* и *in vivo*. Было продемонстрировано, что мангиферин оказывает защитное действие против когнитивного дефицита, депрессии, тревоги, нейровоспаления, окислительного повреждения, неврологического дефицита и отека мозга.

Литературные данные показали, что мангиферин эффективно улучшал пространственное распознавание, эпизодические аверсивные события, кратковременную и долговременную память, в первую очередь благодаря своим антиоксидантным и противовоспалительным свойствам. Результаты исследований показали, что мангиферин улучшает память и когнитивные нарушения у животных на различных моделях, что указывает на его потенциальную профилактическую и терапевтическую роль при нарушении памяти. Он также используется в косметике благодаря антиоксидантным и УФ-защитным свойствам [21-28].

1.1 Синтез и метаболизм мангиферина

Синтез мангиферина осуществляется по реакции Фриделя-Крафта, в которой гликозильный донор и богатое электронами ароматическое соединение связаны гликозидной связью [29]:



В этом случае необходимо арил-С-гликозилирование нефункциональных карбонильных групп С-9 из-за отсутствия электронов. В присутствии метоксида натрия (NaOMe) мангиферин дает выход 0,1% с

последующим образованием О-гликозидной связи путем гидролиза при обработке агликона 1,3,6,7-тетрагидроксиксанта R-ацетобромглюкозой. Мангиферин синтезируют реакцией агликона 1,3,6,7-тетрагидроксиксанта с R-ацетобромглюкозой с последующим гидролизом образовавшейся О-гликозидной связи. Соединения агликона обладают более высоким антиоксидантным потенциалом по сравнению с соответствующими им гликозидами [30].

Биосинтез мангиферина был исследован у *Anemarrhena asphodeloides* (семейство Liliaceae), предполагаемый процесс биосинтеза приведен на рис. 1.1 [31,32].

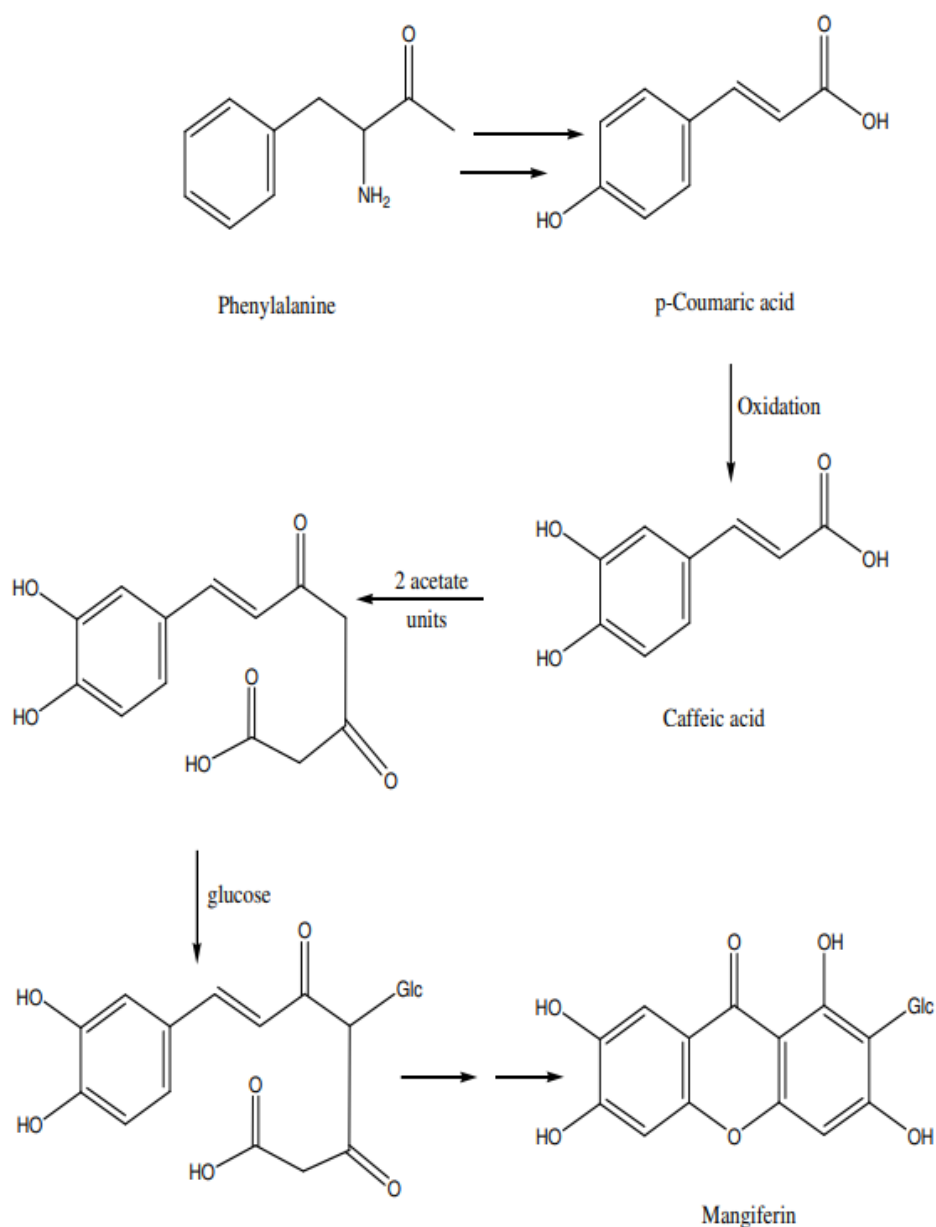


Рис. 1.1 Предполагаемый процесс биосинтеза мангиферина

Авторами статьи [33] описанный синтез мангиферина, гомомангиферина и неомангиферина, трех природных продуктов С-гликозилксантонов, начиная с 2,3,4,6-тетра-О-бензил- α/β -D-глюкопиранозы. Ключевые этапы включают стереоселективное С-гликозилирование защищенного фторглюцина с тетрабензилглюкопиранозилацетатом, стимулированное кислотой Льюиса, и высоко региоселективную циклизацию, индуцированную основанием, для построения основного ксантонового скелета (Рис.1.2).

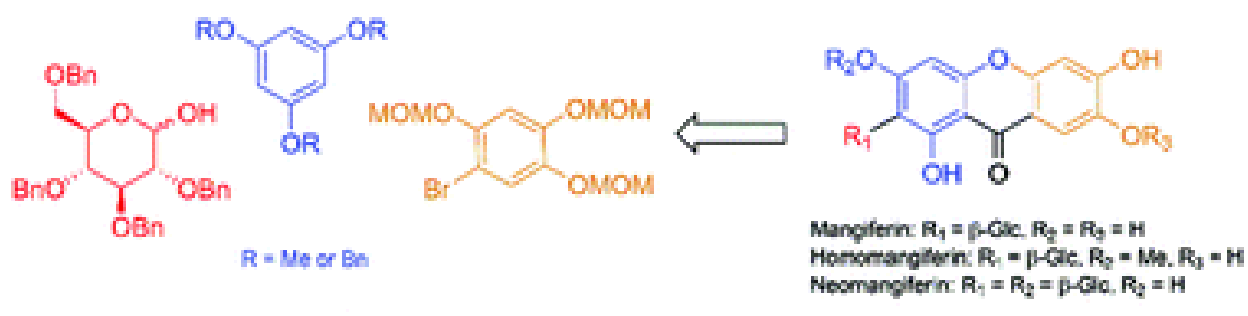


Рис.1.2 Синтез мангиферина, гомомангиферина и неомангиферина

В С-глюкозидах аномерные атомы кислорода, присутствующие в глюкозе, замещены атомами углерода, что делает это семейство значительно отличным от О-гликозидов. Они устойчивы к ферментативной и кислотной деградации. У человека кишечная флора играет важную роль в метаболизме различных веществ. Многие С-глюкозиды содержат С-глюкозильные связи, включая абрузин 2-О- β -D-апиозид, мангиферин, алоэзин, алоэрезин А, бергенин, барбалоин, пуэрарин, сафлор желтый В и гомоориентин, а также трансформируются кишечными бактериями человека в соответствующие агликоны. Важно отметить, что гликозильный заместитель обладает антиоксидантными преимуществами благодаря своей структуре и положению по сравнению с агликоновым заместителем. Биодоступность гликозидов повышается за счет сахарного фрагмента [34].

Исследования мангиферина привели к идентификации аналогичного соединения, а именно агликона мангиферина или норатириола, который в некоторых случаях обладает большей биологической активностью (Рис.1.3).

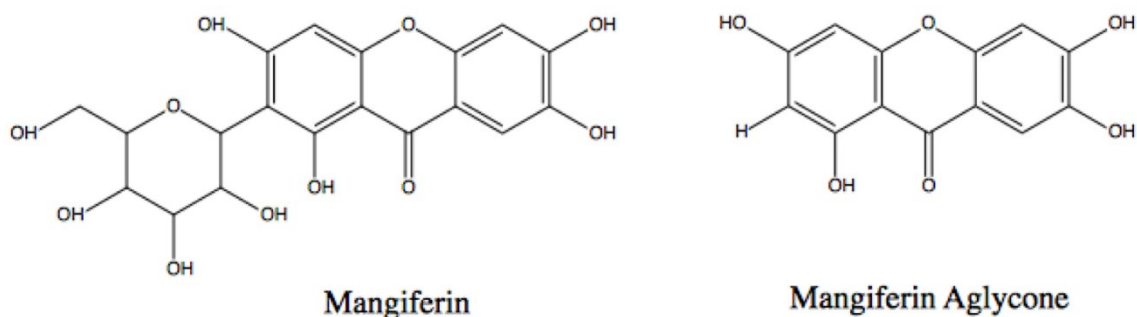


Рис. 1.3 Молекулярная структура мангиферина и агликаона мангиферина

Агликон мангиферина можно синтезировать, минуя любые проблемы устойчивости, связанные с мангиферином. Агликон мангиферина показал разнообразную биологическую активность в отношении некоторых мишеней в большей степени, чем мангиферин, возможно, из-за большей растворимости в воде, что, по-видимому, и обусловлено его применение для уменьшения рака кожи, вызванного УФ-излучением. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения степени сходства биологического действия мангиферина и агликаона мангиферина [35-37].

Мангиферин является потенциальным кандидатом для использования в нутрицевтических и функциональных продуктах питания из-за его многочисленных биологических активностей. Мангиферин, являясь природным антиоксидантом, эффективен при лечении многих серьезных заболеваний. Однако низкая растворимость в воде (0,111 мг/мл), проницаемость слизистой оболочки и биодоступность (пероральная биодоступность мангиферина составляет всего 1,2%) ограничивают развитие мангиферина в качестве клинического терапевтического средства, и для расширения его применения требуется химическая и физическая модификация [38-40].

1.2 Анализ фармацевтического рынка

Ранее в Украине был зарегистрирован препарат «Мангогерпин» в виде крема для наружного использования и капсул. Данный препарат –

противовирусное средство, получаемое из травянистого растения - копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.), копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* Rgl. et Schmalh.), и листьев манго (*Mangifera indica* L.). Препарат обладает противовирусной активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов (*Herpes simplex* I и II типа, *Varicella zoster*, в меньшей степени – цитомегаловируса и вируса иммунодефицита человека). Ингибирует репродукцию вируса обычного герпеса на ранних стадиях его развития.

Показания к применению Мангогерпина: лечение первичных и рецидивирующих поражений кожи и слизистых, вызванных вирусами *Herpes simplex* I и II типа, лечения ветряной оспы, опоясывающего лишая, герпетической экземы Капоши, дерматозов вирусного генеза (красного плоского лишая) [41].

Анализ рынка показал также, что в продаже присутствуют различные биологически активные добавки, которые содержат мангиферин:

«Манго Флю Иммуно» - натуральный иммуномодулятор, обладающий, кроме того, антивирусной активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов, в том числе, группы герпеса.



Состав:

экстракт манго, экстракт ягод асаи,
экстракт амблики (амлы),
аскорбиновая кислота, цинка лактат

«Красный корень» улучшает состояние мужского организма, оказывает также превосходное стимулирующее действие на человеческую сердечную мышцу. Красный корень также показан для лечения различных серьёзных заболеваний дыхательных путей – и бронхов и лёгких, а также при сопутствующих недугах мочеполовой системы.



Состав:

целлюлоза микрокристаллическая,
копеечник чайный (красный корень,
корневище).

«Панкремол» может быть использованный как дополнительный источник саладинола, коталанола, понкоранола, а также ксантоного гликозида – мангиферина, входящих в состав корней салации сетчатой, с целью ингибирования деятельности кишечных ферментов и задержки всасывания глюкозы в кровь, при приеме внутрь. Альфа-липоевая кислота защищает β -клетки поджелудочной железы. Оказывает гипогликемическое и антиоксидантное действия.



Состав:

сухой экстракт корней Салации
сетчатой

Фиточай Organic Herbs Копеечник. Копеечник естественный негормональный стимулятор половой активности для мужчин с мягким, щадящим воздействием. Обладает высокой Р-витаминной активностью. Травя копеечника содержит ксантоновый гликозид мангиферин, обладающий высокой биологической активностью, флавоноиды, аскорбиновую кислоту. В корневищах и корнях растения находятся полисахариды.



Состав:

мелкоизмельченные корни
копеечника (*Hedysarum Alpinum*)
100%

«Диабаланс» способствует нормализации метаболизма; уменьшает вред, причиненный высоким уровнем сахара крови; снижает риск осложнений сахарного диабета; способствует нормализации пищеварения; оказывает

мощное антиоксидантное действие; насыщает организм полезными нутриентами.



Состав: экстракты: побегов и листьев черники, листья джимнемы лесной, (25% джимневой кислоты), створок фасоли, корней салации сетчатой, топинамбура; витамины: Н2 (витамин В7, биотин), Е, В1, В6, β-каротин, С, В9, В3; хрома пиколинат, селен из неактивных дрожжей «Goldcell» в виде селенометионина, цинка бисглицинат.

1.3 Методы анализа мангиферина

Авторами была разработана ВЭЖХ методика анализа для количественного определения мангиферина в растениях рода *Iris* (корневища *Iris hungarica* – $0,101 \pm 0,003\%$ и *Iris sibirica* – $0,081 \pm 0,001\%$) [42,43].

Для анализа содержания С-гликозилксантона, мангиферина (1,3,6,7-тетрагидроксиксантон-С2-β-D-гликозид) в различном растительном материале балканского эндемичного ириса (*Iris reichenbachii* Neuffel) использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Наибольшее содержание зафиксировано в надземной части растений. Продукция мангиферина при культивировании зиготных зародышей на средах с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в качестве единственного регулятора роста растений в культуре тканей зависела от состава среды и уровня дифференцировки тканей. Наибольшее содержание мангиферина при культивировании тканей *I. reichenbachii* было зафиксировано в культурах побегов при индукции органогенеза побегов, в то время как в эмбриогенных каллусных культурах мангиферин синтезировался лишь в следовых количествах. Содержание мангиферина в культурах побегов, регенерированных после криоконсервации методом капельной витрификации, было на том же уровне, что и в культурах побегов до криоконсервации [44].

Разработан процесс экстракции мангиферина из листьев вьетнамского мангового дерева (*Mangifera indica* L.) с использованием смеси изопропанол –

вода (60:40). Химическая структура мангиферина подтверждена физико-химическими методами: ИК-, УФ-спектрофотометрия, электроспрей-МС, ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР спектроскопия. Результаты исследований показали, что мангиферин способен значительно лучше, чем акарбоза, блокировать α -глюкозидазу [45].

С целью изучения видов рода копеечник, а именно *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., была разработана методика выделения и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии. Методика учитывает основные физико-химические свойства ксантонов, характеризуется воспроизводимостью, высокой точностью, простотой исполнения, позволяет проводить как скрининговую оценку различных сырьевых объектов, содержащих производные мангиферина, так и стандартизацию заготовленного лекарственного растительного сырья копеечника. В результате установлено, что наибольшим количественным содержанием суммы ксантонов в пересчете на мангиферин отличается трава *Hedysarum caucasicum* M. Bieb (0,624%) [46].

Был разработан чувствительный и быстрый метод сверхэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (UPLC-MS/MS) для одновременного определения мангиферина и неомангиферина в плазме крыс. Хроматографическое разделение проводили на колонке Acquity UPLC BEH C18, а масс-спектрометрический анализ выполняли с использованием тройного четверного масс-спектрометра Xevo TQD, соединенного с источником ионизации электрораспылением (ESI). Переходы MRM m/z 423,2 \rightarrow 303,1 и m/z 585,0 \rightarrow 273,1 использовали для количественного определения мангиферина и неомангиферина соответственно [47].

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с обращенной фазой (RP-HPLC) предлагается для определения мангиферина в лекарственных кустарниках лоранта и их деревьях-хозяевах манго.

Мангиферин в образцах экстрагировали раствором 40% метанола. Аналитическое определение проводили методом RP-HPLC с ультрафиолетовым детектированием при 258 нм. Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Inertsil ODS-SP (250 × 4,6 мм, 5 мкм) изократическим элюированием смесью метанол–0,1% водная фосфорная кислота (31:69) [48].

Мангиферин (2-бета-D-глюкопиранозил-1,3,6,7-тетрагидроксиксантен-9-он) был выделен из листьев сорта *Mangifera indica* L. Nam Doc Mai. Был разработан и валидирован метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии для количественного определения мангиферина. Метод выполняли на предварительно покрытой силикагелем пластине 60 F₂₅₄ со смесью этилацетат-ацетон-муравьиная кислота-вода 8:2:1:1 в качестве подвижной фазы. Обнаружение и количественный анализ осуществляли денситометрическим сканированием при длине волны 320 нм [49].

Учеными была изготовлена амперометрическая платформа для обнаружения мангиферина, основанная на применении стратегии модификации к голому стеклоуглеродному электроду (GCE). Процедура модификации позволила получить AuPt NPs/CS-IL/C60/MWCNTs-IL/GCE в качестве сенсорной платформы для определения мангиферина в реальных образцах плазмы крови человека [50].

Было осуществлено исследование электрохимического поведения мангиферина на голых и углеродных наноматериалах, модифицированных стеклоуглеродными электродами. Модификация электродов производилась оксидом графена, многостенными углеродными нанотрубками или одностенными углеродными нанотрубками, взвешенными в воде или в ионообменнике Nafion®. Полученные данные показывают, что процесс окисления мангиферина осуществляется по смешанному механизму диффузии и адсорбции. При модификации электродов было установлено, что не только повышается чувствительность сигнала окисления мангиферина, но и

снижается адсорбция продукта окисления, что позволяет проводить несколько последовательных измерений без необходимости полировки электрода [51].

Разработан и утвержден метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии с указанием стабильности для количественного определения мангиферина в нерасфасованном лекарственном средстве. В качестве растворителя использовали этилацетат:этанол:муравьиная кислота (10:1,5:1) (R_f мангиферина $0,66 \pm 0,03$) в режиме поглощения при 340 нм. Данный метод может применяться для контроля качества, а также для тестирования стабильности различных лекарственных форм, содержащих мангиферин [52,53].

Определение мангиферина в метанольном экстракте листьев Баканг Манго (*Mangifera foetida* L.) проводили с использованием утвержденного метода денситометрии тонкослойной хроматографии. Уровни мангиферина определяют с использованием пластин ТСХ с силикагелем 60 GF₂₅₄ в качестве стационарной фазы и с использованием подвижной фазы этилацетат: дистиллированная вода: муравьиная кислота (8,5:1,5:1). Анализ проводят с помощью денситометрии при длине волны 257 нм [54].

Таблетки Манг-Го-Жи-Ке (Mang-Guo-Zhi-Ke tablets (MGZKTs) – эффективное китайское патентованное лекарственное средство, содержащее экстракт листьев манго в качестве основного сырья и антигистаминный препарат хлорфенирамина малеат. Для одновременного определения кемпферола, кверцетина, мангиферина, *n*-гидроксibenзойной кислоты, галловой кислоты и хлорфенирамина малеата в плазме крыс после перорального введения таблеток использовали высокочувствительный, надежный и быстрый метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием тандемной масс-спектрометрией (UHPLC-MS/MS). В качестве внутренних стандартов использовали хлорамфеникол и кларитромицин. Для пробоподготовки была принята осуществимая процедура осаждения белков метанолом. Образцы разделяли на колонке Acquity UHPLC Synchronis C18 (100 × 2,1 мм, 1,7 мкм), используя в качестве подвижной фазы

0,1% муравьиную кислоту–ацетонитрил. Скорость потока была установлена на уровне 0,4 мл/мин [55].

Выводы

Мангиферин (2-С-b-D-глюкопиранозил-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон), природный растительный ксантоноидный полифенол, присутствующий в основном в листьях и коре *Mangifera indica*, проявляет терапевтическую активность при лечении различных заболеваний. Литературные данные свидетельствуют о том, что мангиферин является соединением, обладающим разнообразной фармакологической активностью, в том числе антиоксидантным, противовоспалительным, нейропротекторным, кардиопротекторным, нефропротекторным, гепатопротекторным, антидиабетическим, противоастмическим, гастропротекторным, иммуномодулирующим, противораковым и гипохолестеринемическим действием.

РАЗДЕЛ 2

МЕТОДИ АНАЛИЗА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ

Фармацевтический анализ — очень широкая тема, включающая в себя идентификацию лекарств, анализ качества лекарственных форм, количественную оценку в различных матрицах и исследования разложения. Анализ лекарств включает активные фармацевтические ингредиенты (АФИ), вспомогательные вещества (вещества, которые служат основой таблеток или других составов), продукты разложения, примеси, оставшиеся в результате синтеза лекарств, и метаболиты.

2.1 Тонкослойная хроматография

Тонкослойная хроматография (ТСХ) может использоваться в очень широком контексте анализа лекарств. Это метод разделения, при котором процесс разделения происходит в однородном плоском слое сорбента, помещенном на стеклянную, алюминиевую пластину или пластиковый лист. Сорбент называют неподвижной фазой. Во время анализа пластину погружают в подвижную фазу, обычно смесь двух-четырех растворителей, и проявляют вертикально или горизонтально. Процесс разделения происходит за счет различных механизмов, таких как адсорбция (например, взаимодействие водородных связей), разделение между неподвижной и подвижной фазами или ионный обмен, в зависимости от природы сорбента. После проявления соединения могут быть обнаружены (визуализированы) и идентифицированы по их естественному цвету или флуоресценции, тушению флуоресценции на слое, содержащем флуоресцентный индикатор, или по созданию окрашенных пятен после обработки пластины хромогенным реагентом для обнаружения путем распыления, погружения или воздействия паров. Основной причиной неизменно высокого интереса к ТСХ является то, что она не требует сложного оборудования, а коммерчески доступные

пластины могут быть разработаны практически в любой лаборатории. Сила удерживания зависит от структуры лекарственного средства, и различия в удерживании являются основным фактором, ответственным за разделение. Поскольку маловероятно получение одинаковых характеристик удерживания двух веществ в хорошо подобранной хроматографической системе, включающей неподвижную и подвижную фазы, идентичность лекарственного средства можно подтвердить путем сравнения удерживания в нескольких системах с эталоном. стандарт. Кроме того, АФИ в образце и эталонный препарат должны образовывать пятна одинакового цвета после распыления реагентов для обнаружения. Хотя недавняя тенденция в ТСХ включает масс-спектрометрию в качестве дополнительного доказательства идентичности фунт, этот подход используется очень редко. Если доступен чистый эталонный стандарт, можно быть почти уверенным в подлинности неизвестного лекарства после изучения поведения удержания и визуализации. Однако возникает вопрос, какие «несколько систем» следует использовать для идентификации. Хотя в литературе были предложены некоторые «Стандартные системы ТСХ» для большой группы соединений, непрерывная эволюция ТСХ привела к появлению статей, рекомендующих оптимальные системы ТСХ для разделения и идентификации всех групп лекарственных средств.

ТСХ также является полезным инструментом для проверки чистоты. Практически для любого лекарственного средства в литературе можно найти рекомендуемые условия ТСХ для проверки чистоты (отделение АФИ и примесей или продуктов разложения). Существование продуктов деградации можно подтвердить, увидев дополнительные пятна на пластине, а их идентичность можно подтвердить, как описано выше, если доступны эталонные соединения. Помимо идентификации и проверки чистоты, основным применением ТСХ в анализе лекарственных средств является контроль лекарственной формы. Количественный анализ в ТСХ доступен при сканировании пластины денситометром или видеосканером. Это обеспечивает

точное определение лекарств в таблетках, капсулах, растворах, мазях и многих других типах составов. С помощью системы селективной ТСХ можно отделять и обнаруживать примеси и разложение лекарств, что очень важно для контроля качества лекарств. Аналитические методы ТСХ должны быть проверены на селективность (чистоту пика), прецизионность, правильность, линейность, устойчивость и жесткость. Пределы обнаружения и количественного определения также должны быть оценены. В большинстве случаев можно выполнить все желаемые требования валидации и получить результаты, которые сравнимы или незначительно хуже, чем результаты других гораздо более сложных подходов. Текущие требования установлены Международной конференцией по гармонизации (ICH), и большинство методов, представленных в литературе, разработаны и утверждены в соответствии с этими требованиями [56].

Хроматография укладывается, когда растворитель достигает соответствующей высоты, не достигающей высоты хроматографического листа. Хроматографическое предметное стекло извлекают из камеры, а фронт растворителя обозначают линией.

Расположение веществ на тонкослойной хроматографии можно визуализировать несколькими методами, включая прямую визуализацию с помощью ультрафиолетового света, использование ультрафиолетового света на предметных предметах, обработанных фосфором, или подложку предметных стекол парами йода.

При идентификации и характеристике различных веществ используется так называемый коэффициент удержания (RF).

Rf – расстояние, которое достигает вещество к расстоянию, которое достигает фронт растворителя.

Значение Rf является специфичным для каждого вещества для определенной смеси растворителей подвижной фазы и зависит также от типа неподвижной фазы.

Процесс тонкослойной хроматографии складывается из нескольких этапов:

1. Смесь растворителей помещают в хроматографическую камеру, используя объем, высота которого достигает примерно 1 см.
2. Перед началом хроматографии желательно герметично закрыть камеру и дать возможность парам растворителя насытить воздух в ней.
3. Графитным карандашом производится линия на высоте 1,5 см от одного конца хроматографического листа. Образцы, которые следует использовать для хроматографии, помещают на полосу с помощью стеклянного капилляра.
4. Затем лист хроматографии с образцами, подлежащими анализу, помещают в камеру и закрывают стеклянной крышкой.
5. Подъем смеси растворителей наблюдается до тех пор, пока передняя часть растворителя не достигнет высоты примерно на 2 см ниже высоты хроматографического листа. Затем лист хроматографии вынимают из камеры и на нем размечают по линии фронт растворителя.
6. Лист помещают в печь для сушки, а вещества, присутствующие на хроматограмме, анализируют с использованием общего метода визуализации или специфического для хроматографического материала.
7. Значения R_f получают для различных присутствующих веществ и на основе хроматографического контроля, а также идентифицируются данными литературы по этому веществу [57].

2.2 Спектрофотометрия

Спектрофотометрия — метод анализа, основанный на определении спектра поглощения или измерении светопоглощения при определенной длине волны, соответствующей максимуму кривой поглощения исследуемого вещества. Анализ осуществляют по поглощению веществами монохроматического излучения в видимом, УФ- и ИК-участках спектра.

Спектрофотометрию используют для идентификации соединений, исследования состава, строения и количественного анализа индивидуальных веществ и многокомпонентных систем. Кривую зависимости поглощения от длины волны или волнового числа называют спектром поглощения вещества. Эта кривая является специфичной для определенного вещества. Качественный анализ веществ по их спектрам поглощения проводят двумя способами: по известным параметрам спектра поглощения исследуемого вещества; сравнением спектров поглощения раствора стандартного вещества и раствора исследуемого вещества одного и того же состава. Применение в анализе метода спектрофотометрии, как и других фотометрических методов, основывается на использовании для определения концентраций веществ закона Бугера-Ламберта-Бера:

$$\lg(I_0/I) = \chi \cdot C \cdot l,$$

где I_0 - интенсивность электромагнитного излучения, падающего на раствор вещества;

I — интенсивность электромагнитного излучения, прошедшего через раствор вещества;

l – толщина слоя раствора;

C — концентрация исследуемого раствора;

χ – показатель поглощения раствора.

Величину $\lg(I_0/I)$ называют оптической плотностью. Ее обозначают буквами A или D . Показатель поглощения – константа для каждого вещества при определенной длине волны светового излучения. Она равна оптической плотности раствора с концентрацией и толщиной слоя, равных единице. Если концентрацию выражают в моль/дм³, то обозначают через ϵ и называют молярным коэффициентом светопоглощения (молярный коэффициент экстинкции). В случае, когда C массо-объемная концентрация, коэффициент χ называют удельным коэффициентом светопоглощения (удельным коэффициентом экстинкции) с соответствующим обозначением $A_{1\text{см}}^{1\%}$. Связь

между ε и $A_{1\text{см}}^{1\%}$. выражают зависимостью $\varepsilon = A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot M/10$, где M – молярная масса определенного вещества.

В отличие от фотоколориметрических определений в спектрофотометрии можно анализировать не только окрашенные, но и бесцветные растворы. В последнем случае анализ проводят не в видимом, а в УФ- или ИК-участках спектра.

Основным видом приборов для спектрофотометрии являются спектрофотометры, в которых монохроматизация обеспечивается специальными оптическими устройствами — монохроматорами, позволяющими непрерывно изменять длину волны электромагнитного излучения, проходящего через анализируемый раствор.

В спектрофотометрическом анализе, как и в фотоколориметрии, необходимо создавать оптимальные условия для достижения определенной точности и воспроизводимости результатов. Относительная ошибка спектрофотометрических определений индивидуальных веществ не превышает 2% [58].

2.2.1 Абсорбционная спектрофотометрия

УФ/видимая спектроскопия обычно используется в аналитической химии для количественного определения различных аналитов или образцов, таких как ионы переходных металлов, сильно сопряженные органические соединения и биологические макромолекулы. Спектроскопический анализ обычно проводят в растворах, но также можно изучать твердые вещества и газы.

Органические соединения, особенно с высокой степенью сопряжения, также поглощают свет в УФ или видимой области электромагнитного спектра. Растворителями для этих определений часто являются вода для водорастворимых соединений или этанол для органических растворимых соединений. Органические растворители имеют значительное УФ-поглощение и не все подходят для использования в УФ-спектроскопии.

Этанол очень слабо поглощает при большинстве длин волн. Полярность растворителя и pH могут влиять на спектр поглощения органического соединения.

Закон Бера-Ламберта гласит, что поглотительная способность раствора прямо пропорциональна концентрации поглощающих частиц в растворе и длине пути. Таким образом, при фиксированной длине оптического пути для определения концентрации поглотителя в растворе можно использовать УФ/видимую спектроскопию. Необходимо знать, как быстро изменяется поглощение в зависимости от концентрации. Это можно взять из справочников (таблицы молярных коэффициентов экстинкции) или, точнее, определить по калибровочной кривой.

Длины волн пиков поглощения могут быть соотнесены с типами связей в данной молекуле и полезны при определении функциональных групп внутри молекулы. Правила Вудворда-Физера, например, представляют собой набор эмпирических наблюдений, используемых для предсказания λ_{max} , длины волны наиболее интенсивного поглощения УФ/видимого света, для сопряженных органических соединений, таких как диены и кетоны. Однако спектр сам по себе не является специфическим тестом для любого данного образца. Природа растворителя, pH раствора, температура, высокая концентрация электролита и присутствие мешающих веществ могут влиять на спектр поглощения. Экспериментальные изменения, такие как ширина щели (эффективная полоса пропускания) спектрофотометра, также изменят спектр. Чтобы применить УФ/видимую спектроскопию к анализу, эти переменные необходимо контролировать или учитывать, чтобы идентифицировать присутствующие вещества.

Этот метод чаще всего используется для количественного определения концентрации поглощающих частиц в растворе с использованием закона Бера – Ламберта:

$$A = \log_{10}(I_0/I) = \epsilon cL$$

где A — измеренная оптическая плотность,

I_0 — интенсивность падающего света на заданной длине волны,

I — пропускаемая интенсивность,

L — длина пути через образец,

c — концентрация поглощающих частиц.

Для каждого вида и длины волны ϵ является константой, известной как молярная поглощательная способность или коэффициент экстинкции. Эта константа является фундаментальным молекулярным свойством в данном растворителе при определенной температуре и давлении и имеет единицы $l/M \cdot cm$.

Поглощение и экстинкция ϵ иногда определяются в терминах натурального логарифма вместо десятичного логарифма.

Закон Бера-Ламберта полезен для характеристики многих соединений, но не является универсальным соотношением для концентрации и поглощения всех веществ. Полиномиальная зависимость 2-го порядка между поглощением и концентрацией иногда встречается для очень больших сложных молекул, таких как органические красители (например, ксиленоловый оранжевый или нейтральный красный).

УФ-видимая спектроскопия также используется в полупроводниковой промышленности для измерения толщины и оптических свойств тонких пленок на пластине. Спектрометры UV-Vis используются для измерения коэффициента отражения света [59].

Выводы

Физико-химические методы анализа, такие как тонкослойная хроматография и абсорбционная спектрофотометрия имеют ряд преимуществ и широко используются в современном фармацевтическом анализе. В данном разделе были описаны основные характеристики данных методов для дальнейшего использования в экспериментальной части.

РАЗДЕЛ 3

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАНГИФЕРИНА

(Экспериментальная часть)

Материалы и методы. Спектрофотометр “Evolution 60s” (Thermo Fisher Scientific, США), аналитические весы “AXIS” (Польша), мерная посуда класса А и реактивы, соответствующие требованиям Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ) [60].

Для выбора методик контроля качества мангиферина использовали литературные данные растворимости соединения [61] наличие литературных данных по физико-химическим свойствам вещества [62].

Использование мангиферина в медицинской и косметической сфере, обусловили изучить возможные методы количественной оценки соединения. В литературе описаны методики количественного определения мангиферина в чистом виде и в лекарственном растительном сырье хроматографическими [63,64] и электрохимическими методами [65,66,67]. Несмотря на широкое применение такого селективного метода анализа лекарственных препаратов, как высокоэффективная жидкостная хроматография, в настоящее время спектрофотометрические методы сохраняют важное место в рутинном анализе, например, используются для фармако-технологических испытаний и изучения стабильности новых лекарственных форм.

Строение мангиферина и его физические свойства позволяют для идентификации и количественного определения соединения использовать химические и физико-химические методы анализа, такие как тонкослойная хроматография и абсорбционная спектрофотометрия.

Наличие в молекуле анализируемого соединения фенольного гидроксила, обусловила проведение реакции с раствором железа (III) хлорида; образовывался осадок темно-зеленого цвета.

Методика проведения реакции. 0,05 г мангиферина растворяют в 10 мл спирта этилового 70%. К 2 мл полученного раствора прибавляют 0,5 мл раствора железа (III) хлорида; образуется осадок темно-зеленого цвета.

Для идентификации соединения использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). В качестве растворителя был выбран спирт этиловый 70%, в котором мангиферин лучше растворим чем в воде. В качестве неподвижной фазы использовали ТСХ-пластинки со слоем силикагеля и флуоресцентным индикатором F₂₅₄ (с. НХ04954354, Merk, Германия), подвижной – смесь растворителей н-бутанол : уксусная кислота ледяная : вода (80:20:10), детектирование проводили путем пересмотра хроматограмм в УФ-свете при длине волны 254 нм та 365 нм (рис. 3.1 и 3.2).

Методика проведения испытания:

Исследуемый раствор. 50 мг мангиферина растворяют в 50,0 мл спирта этилового 70%.

Пластинка. ТСХ-пластинка со слоем силикагеля *P* и флуоресцентным индикатором (F₂₅₄).

Подвижная фаза: н-бутанол *P* – уксусная кислота ледяная *P* – вода *P* (80:20:10).

Нанесение: 5 мкл исследуемого раствора полосками по 10 мм.

Расстояние, которое должно пройти подвижная фаза: 10 см от линии старта.

Высушивание: на воздухе в течение 20 мин.

Обнаружение A: пересматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Результаты A: ниже приведена последовательность зон на хроматограмме исследуемого раствора.

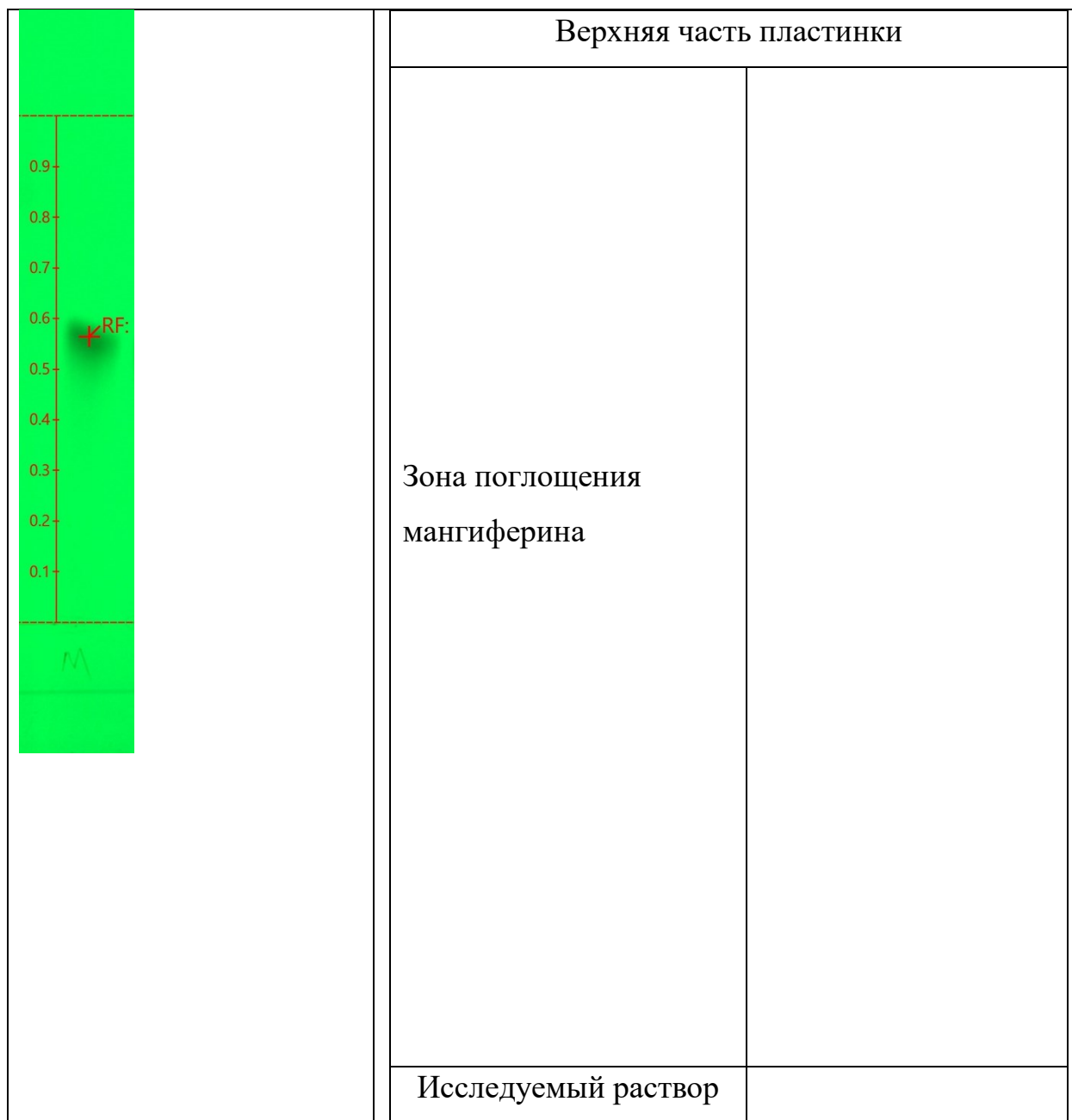


Рис. 3.1 Хроматограмма после детектирования в УФ-свете при длине волны 254 нм

Обнаружение В: пересматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Результаты В: ниже последовательность зон на хроматограмме исследуемого раствора.

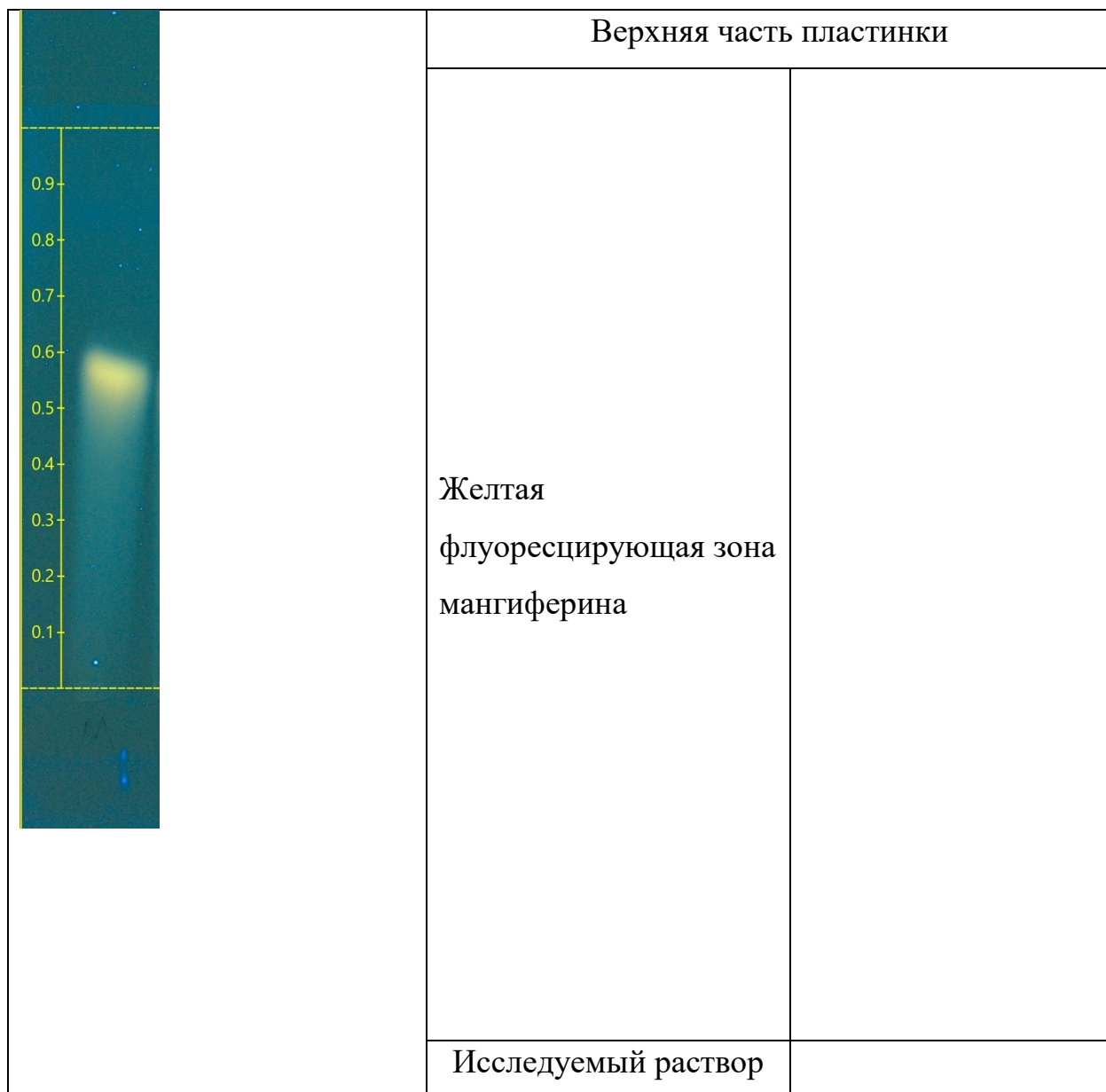


Рис. 3.2 Хроматограмма после детектирования в УФ-свете при длине волны 365 нм

Полученные результаты определения R_f (рис. 3.1 и 3.2) свидетельствуют об идентичности соединения [61].

Для использования в анализе мангиферина метода абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области изучали характер спектра поглощения 0,004% спиртового раствора мангиферина в области от 220 нм до 400 нм (рис. 3.3).

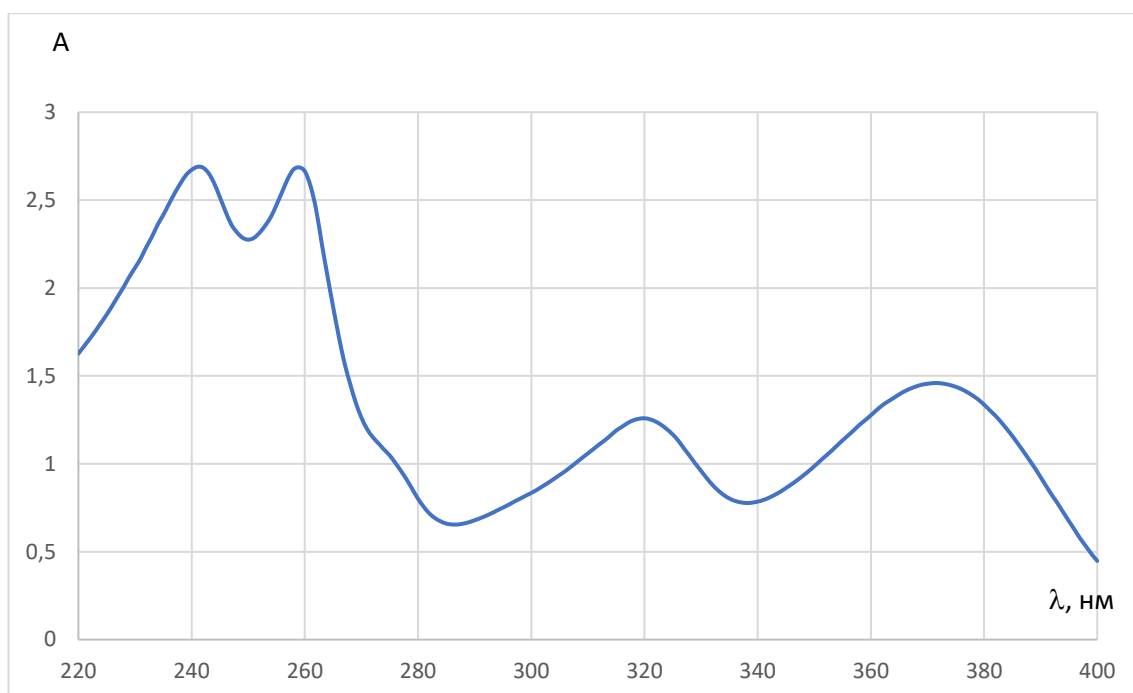


Рис. 3.3 Абсорбционный спектр поглощения 0,004% спиртового раствора мангиферина

Установили, что абсорбционный спектр поглощения 0,004% раствора мангиферина в 70% этиловом спирте характеризуется наличием четырех максимумов поглощения при длинах волн 241 нм, 259 нм, 320 нм и 373 нм. Максимумы поглощения при длинах волн 320 нм и 373 нм наиболее специфичны, в то же время максимум при 373 нм более интенсивный.

Для дальнейшего использования метода спектрофотометрии для идентификации и количественной оценки мангиферина в анализе целесообразно было выбрать аналитическую длину волны и изучить подчинение спиртовых растворов вещества закону Бугера-Ламберта-Бера при 373 нм.

Методика приготовления стандартных спиртовых растворов мангиферина.

0.050 г (точную навеску СО мангиферина (содержит 99,5% мангиферина, производитель Shaanxi, Китай) помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, растворяют в 25 мл 70% этилового спирта и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Из полученного раствора готовили стандартные растворы разведением разных объемов в мерных колбах вместимостью 25,0 мл и доводили объем раствора этиловым спиртом 70% до метки. Измеряли величину оптической плотности исследуемых растворов на спектрофотометре Evolution 60s (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 373 нм. Как компенсационный раствор использовали 70% спирт этиловый (табл. 3.1, рис. 3.4).

Таблица 3.1

Определение оптической плотности стандартных спиртовых растворов
мангиферина различных концентраций

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
С, %	0,0002	0,0004	0,0006	0,0008	0,0010	0,0012	0,0014	0,0016	0,0018	0,0020
А	0,097	0,173	0,268	0,344	0,435	0,508	0,591	0,672	0,759	0,842
$A_{1\%}^{1\text{см}}$	485	433	447	430	435	423	422	420	422	421

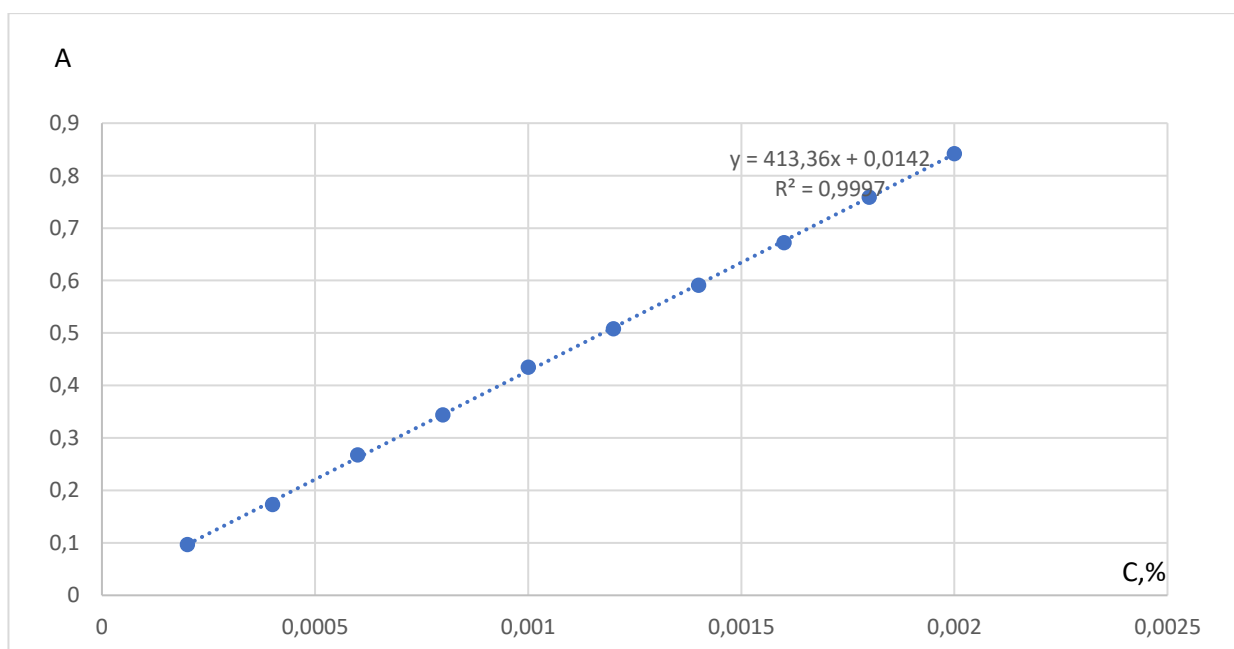


Рис. 3.4 Градуированный график зависимости оптической плотности от концентрации стандартных спиртовых раствором мангиферина

Установлено, что подчинение спиртовых растворов мангиферина при длине волны 373 нм основному закону светопоглощения наблюдается в пределах концентрации вещества от 0,002 мг/мл до 0,020 мг/мл (рис. 3.4).

Для дальнейшего использования метода абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области в анализе мангиферина, рассчитывали удельный показатель поглощения с использованием формулы:

$$A_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{10 \cdot \varepsilon}{M.м.},$$

где ε – молярный показатель поглощения;

М.м. - молекулярная масса мангиферина.

В свою очередь молярный показатель поглощения рассчитывали по формуле:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b,$$

$$\varepsilon = \frac{A}{c \cdot b},$$

где ε – молярный показатель поглощения;

A – оптическая плотность полученного раствора;

b – длина оптического пути, в сантиметрах;

c – концентрация вещества в растворе, в молях на литр.

Полученные результаты расчета удельного показателя поглощения спиртовых растворов мангиферина при длине волны 373 нм приведены в таблице 3.1.

Полученные результаты удельного показателя поглощения были подвергнуты статистической обработке. Результаты статистической обработки могут быть признаны достоверными только в том случае, когда входящие в нее варианты не обременены грубой ошибкой.

Для исключения ошибки, выборку проверяли на однородность (удельный показатель поглощения длины волны 373 нм) (табл. 3.1) [60].

Рассчитывали величину размаха варьирования R (для результатов $A_{1\text{см}}^{1\%}$ в порядке возрастания):

$$R = |420 - 485| = 65$$

Контрольные критерии для идентификации грубых ошибок:

$$Q_1 = \frac{|420-421|}{65} = 0,02 \quad Q_2 = \frac{|421-422|}{65} = 0,02$$

$$Q_3 = \frac{|422-422|}{65} = 0 \quad Q_4 = \frac{|422-423|}{65} = 0,02$$

$$Q_5 = \frac{|423-430|}{65} = 0,11 \quad Q_6 = \frac{|430-433|}{65} = 0,05$$

$$Q_7 = \frac{|433-435|}{65} = 0,03 \quad Q_8 = \frac{|435-447|}{65} = 0,18$$

$$Q_9 = \frac{|447 - 485|}{65} = 0,58$$

Выборку нельзя считать однородной, так как $Q(P, \nu) 0,58 \geq Q(95\%, 10) = 0,46$ [60]. Поэтому необходимо отбросить крайнюю величину и провести проверку выборки для 9 определений.

Размах варьирования составляет.

$$R = |420 - 447| = 27$$

Контрольные критерии для идентификации грубых ошибок:

$$Q_1 = \frac{|420-421|}{27} = 0,04 \quad Q_2 = \frac{|421-422|}{27} = 0,04$$

$$Q_3 = \frac{|422-422|}{27} = 0 \quad Q_4 = \frac{|422-423|}{27} = 0,04$$

$$Q_5 = \frac{|423-430|}{27} = 0,26 \quad Q_6 = \frac{|430-433|}{27} = 0,11$$

$$Q_7 = \frac{|433-435|}{27} = 0,07 \quad Q_8 = \frac{|435-447|}{65} = 0,44$$

Выборку можно считать однородной с вероятностью 95%, так как $Q(P, \nu) 0,44 \leq Q(95\%, 10) = 0,46$ [60].

Далее рассчитываем метрологические характеристики среднего результата.

Среднее значение $A_{\text{ср}}^{1\%}$

$$\bar{x} = \frac{\sum_i^n x_i}{n} = \frac{420 + 421 + 422 + 447 + 435 + 422 + 433 + 430 + 423}{9} = 428$$

Дисперсию можно рассчитать двумя способами $S^2 = \frac{\sum_i^n x_i^2 - nx^2}{\nu}; (\nu = n - 1)$

$$\text{или } S^2 = \frac{\sum_i^n d_i^2}{\nu}$$

$$d_1 = |x_1 - \bar{x}| = |420 - 428| = 8$$

$$d_6 = |x_1 - \bar{x}| = |422 - 428| = 6$$

$$d_2 = |x_2 - \bar{x}| = |421 - 428| = 7$$

$$d_7 = |x_1 - \bar{x}| = |433 - 428| = 5$$

$$d_3 = |x_3 - \bar{x}| = |422 - 428| = 6$$

$$d_8 = |x_1 - \bar{x}| = |430 - 428| = 2$$

$$d_4 = |x_4 - \bar{x}| = |447 - 428| = 19$$

$$d_9 = |x_1 - \bar{x}| = |423 - 428| = 5$$

$$d_5 = |x_5 - \bar{x}| = |435 - 428| = 7$$

$$S^2 = \frac{\sum_i^n d_i^2}{v} = 72,1111$$

Стандартное отклонение $S = \sqrt{S^2} = 8,4918$

Стандартное отклонение относительно среднего результата $S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}} = 2,8306$

Стандартное отклонение отдельного результата:

$$S_r = \frac{S}{\bar{x}} = \frac{8,4918}{428} = 0,0198$$

$$RSD = S_r \cdot 100 = 0,0198 \cdot 100 = 1,98 \%$$

Относительное (по отношению к среднему результату) стандартное отклонение среднего результата:

$$S_{\bar{x}, r} = \frac{S_{\bar{x}}}{\bar{x}} = \frac{2,8306}{428} = 0,0066$$

$$RSD_{\bar{x}} = S_{\bar{x}, r} \cdot 100 = 0,0066 \cdot 100 = 0,66 \%$$

Доверительный интервал результата отдельного определения:

$$x_i \pm \Delta_x = x_i \pm t(P_2, v) \cdot s = x_i \pm 1,8595 \cdot 8,4918 = 428 \pm 15,79$$

Доверительный интервал среднего результата:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = \bar{x} \pm \frac{t(P_2, v) \cdot s}{\sqrt{n}} = 428 \pm \frac{1,8595 \cdot 8,4918}{\sqrt{9}} = 428 \pm 5,26$$

Относительные неопределенности результата отдельного определения^

$$\varepsilon = \frac{\Delta_x}{\bar{x}} \cdot 100\% = \frac{15,79}{428} \cdot 100\% = 3,69\%$$

Относительные неопределенности среднего результата

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}} \cdot 100\% = \frac{5,26}{428} \cdot 100\% = 1,23\%$$

Метрологические характеристики среднего результата определения удельного показателя поглощения $A_{\text{лсм}}^{1\%}$ спиртовых растворов мангиферина при длине волны 373 нм приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2

Метрологические характеристики среднего результата $A_{1см}^{1\%}$ спиртового раствора мангиферина при длине волны 373 нм

ν	\bar{x}	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	P	$t(P, \nu)$	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
8	428	72,11	8,49	2,83	95	1,8595	5,26	1,23

Таким образом, рассчитанный удельный показатель поглощения спиртового раствора мангиферина $428 \pm 5,26$ при длине волны 373 нм может быть использован для идентификации и количественной оценки соединения методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области.

Методика идентификации.

Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях (2.2.25).

Исследуемый раствор. 50 мг субстанции растворяют в 70% спирте этиловом и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл. 5,0 мл полученного раствора доводят 70% спиртом этиловом до объема 250,0 мл.

Спектральная область: от 220 до 400 нм.

Максимумы поглощения: длины волн 241 нм, 259 нм, 320 нм и 373 нм.

Удельный показатель поглощения в максимуме при длине волны 373 нм: от 422 до 434.

Методика количественного определения. Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области (2.2.25).

Исследуемый раствор. 0.050 г (точную навеску) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в 50 мл 70% этилового спирта и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу 250,0 мл и доводят объем раствора этиловым спиртом 70% до метки.

Компенсационный раствор. 70% спирт этиловый.

Измеряют оптическую плотность исследуемого раствора при длине

волны 373 нм против компенсационного раствора.

Содержание мангиферина рассчитывают в процентах с учетом рассчитанного удельного показателя поглощения, который равен 428, по формуле:

$$x = \frac{A_0 \cdot 100,0 \cdot 250,0}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m_{\text{н}} \cdot 5,0} = \frac{A_0 \cdot 100,0 \cdot 250,0}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m_{\text{н}} \cdot 5,0},$$

где A_0 – оптическая плотность исследуемого раствора;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения мангиферина;

$m_{\text{н}}$ – масса навески, г.

Результаты количественного спектрофотометрического определения мангиферина в субстанции методом удельного показателя поглощения приведены в таблице 3.3.

Таблица 3.3

Результаты количественного спектрофотометрического определения мангиферина в субстанции и метрологические характеристики среднего результата

№	Масса навески, г	Оптическая плотность, A	$A_{1\text{см}}^{1\%}$	Содержание мангиферина, %	Метрологические характеристики
1	0,0502	0,431	428	100,30	$\bar{x} = 100,09\%$ $S^2 = 0,4808$ $S = 0,6934$ $S_x = 0,2831$ $\Delta_x = 1,7824$ $\Delta_{\bar{x}} = 0,7277$ $\bar{\varepsilon} = 0,73\%$
2	0,0496	0,429		101,04	
3	0,0489	0,421		100,58	
4	0,0492	0,421		99,96	
5	0,0511	0,435		99,48	
6	0,0523	0,444		99,18	

Разработанная методика спектрофотометрического количественного определения мангиферина характеризуется неопределенностью среднего результата 0,73%, что свидетельствует о возможности использования метода в анализе данной субстанции.

Выводы

1. Идентификацию мангиферина предложено проводить реакцией с раствором железа (III) хлорида по образованию осадка зеленого цвета.
2. Идентификацию мангиферина методом тонкослойной хроматографии рекомендовано проводить в спирте этиловом 70%, используя в качестве неподвижной фазы ТСХ-пластинки со слоем силикагеля и флуоресцентным индикатором F_{254} , подвижной – смесь растворителей н-бутанол : уксусная кислота ледяная : вода (80 : 20 : 10) и детектировать хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 нм.
3. Для количественного определения мангиферина разработан метод абсорбционной спектрофотометрии. Установлено, что 0,004% спиртовой раствор мангиферина в области от 220 нм до 400 нм характеризуется наличием четырех максимумов поглощения при длинах волн 241 нм, 259 нм, 320 нм и 373 нм.
4. Для дальнейших исследований выбрана наиболее специфическая длина волны при 373 нм, в которой подчиняемость закону Бугера-Ламберта-Бера наблюдается в пределах концентраций спиртовых растворов мангиферина от 0,002 мг/мл до 0,020 мг/мл.
5. Для использования метода абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области для идентификации и количественного определения мангиферина, рассчитан удельный показатель поглощения, который должен быть $428 \pm 5,26$. Величина удельного показателя поглощения метрологически аттестована.
6. Количественное определение мангиферина предложено проводить методом абсорбционной спектрофотометрии спиртового раствора при длине волны 373 нм, методом удельного показателя поглощения. Полученные результаты количественного содержания мангиферина подвергнуты статистической обработке, результаты которой свидетельствуют о дальнейшем использовании предлагаемой методики в анализе вещества в субстанции и готовых лекарственных формах.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведен обзор литературы о механизме действия, фармакологических свойствах и применения в медицинской и косметической практике мангиферина, способы получения вещества и его физико-химических свойствах.
2. Анализ фармацевтического рынка показал, что популярны биологически активные добавки, содержащие манго, корни копеечника и корни салации, которые содержат мангиферин.
3. Проведен анализ литературных источников относительно методов идентификации и количественного определения мангиферина в лекарственном растительном сырье.
4. Подобраны оптимальные условия спектрофотометрического определения мангиферина. Выбран растворитель 70% спирт этиловый, аналитическая длина волны при специфическом максимуме поглощения при длине волны 373 нм, при котором наблюдается подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера в диапазоне концентраций от 0,002 мг/мл до 0,020 мг/мл и рассчитан удельный показатель поглощения $428 \pm 5,26$. Рассчитанную величину удельного показателя поглощения спиртовых растворов вещества при длине волны 373 нм рекомендовано использовать для идентификации и количественного определения мангиферина.
5. Результаты количественного определения активного фармацевтического ингредиента мангиферина метрологически аттестованы и совпадают с данными, указанными в спецификации на вещество.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Nott P.E., Roberts J.C. The structure of mangiferin // *Phytochemistry*. 1967. Vol. 6. P. 741-747.
2. da Cruz J.W., Jr de Moraes L.R., dos Santos M.H. et al. Crystalline structure of mangiferin, a C-Glycosyl-Substituted 9H-Xanthen-9-one isolated from the stem bark of mangifera indica // *Helv. Chim. Acta*. 2008. Vol. 91. P. 144-154.
3. Khare P., Shanker K. Mangiferin: A review of sources and interventions for biological activities // *BioFactors*. 2016. Vol. 42 (5). P. 504-514.
4. Sekar M. Molecules of Interest — Mangiferin. A Review / *Annu. Res. Rev. Biol.* 2015. Vol. 5, N 4. P. 307-320.
5. Barreto J.C., Trevisan M.T.S., Hull W.E. et al. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.) // *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56. P. 5599-5610.
6. Mangiferin. <https://en.wikipedia.org/wiki/Mangiferin>
7. Kavitha M., Nataraj J., Essa M.M., Memon M.A., Manivasagam T. Mangiferin attenuates MPTP induced dopaminergic neurodegeneration and improves motor impairment, redox balance and Bcl-2/Bax expression in experimental Parkinson's disease mice // *Chem. Biol. Interact.* 2013. Vol. 206. P. 239-247.
8. Tolosa L., Rodeiro I., Donato M.T. et al. Multiparametric evaluation of the cytoprotective effect of the *Mangifera indica* L. stem bark extract and mangiferin in HepG2 cells // *J. Pharm. Pharmacol.* 2013. Vol. 65. P. 1073-1082.
9. Zou T., Wu H., Li H., Jia Q., Song G. Comparison of microwave-assisted and conventional extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves // *J. Sep. Sci.* 2013. Vol. 36. P. 3457-3462.

- 10.Chellan N., Joubert E., Strijdom H. et al. Aqueous extract of unfermented honeybush (*Cyclopia maculata*) attenuates STZ-induced diabetes and β -cell cytotoxicity // *Planta Med.* 2014. Vol. 80. P. 622-629.
- 11.Chavan J.J., Ghadage D.M., Kshirsagar P.R., Kudale S.S. Optimization of extraction techniques and RP-HPLC analysis of antidiabetic and anticancer drug mangiferin from roots of saptarangi (*Salacia chinensis* L.) // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2015. Vol. 38. P. 963-969.
- 12.Chavan J.J., Ghadage D.M., Bhoite A.S., Umdale S.D. Micropropagation, molecular profiling and RP-HPLC determination of mangiferin across various regeneration stages of Saptarangi (*Salacia chinensis* L.) // *Ind. Crops Prod.* 2015. Vol. 76. P. 1123-1132.
- 13.Hu X.Y., Deng J.G., Wang L., Yuan Y.F. Synthesis and anti-tumor activity evaluation of gallic acid-mangiferin hybrid molecule // *Med. Chem.* 2013. Vol. 9. P. 1058-1062.
- 14.Rajendran P., Rengarajan T., Nishigaki I., Ekambaram G., Sakthisekaran D. Potent chemopreventive effect of mangiferin on lung carcinogenesis in experimental Swiss albino mice // *J. Cancer Res. Ther.* 2014. Vol. 10. P. 1033-1039.
- 15.Rodeiro I., Delgado R., Garrido G. Effects of a *Mangifera indica* L. stem bark extract and mangiferin on radiation-induced DNA damage in human lymphocytes and lymphoblastoid cells // *Cell Prolif.* 2014. Vol. 47. P. 48-55.
- 16.Hewavitharana A.K., Tan Z.W., Shimada R., Shaw P.N., Flanagan B.M. Between fruit variability of the bioactive compounds, β -carotene and mangiferin, in mango (*Mangifera indica*) // *Nutr. Diet.* 2013. Vol. 70. P. 158-163.
- 17.Louisa M., Soediro T.M., Suyatna F.D. In vitro modulation of P-glycoprotein, MRP-1 and BCRP expression by mangiferin in doxorubicin-treated MCF-7 cells // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014. Vol. 15. P. 1639-1642.

18. Dou W., Zhang J., Ren G. et al. Mangiferin attenuates the symptoms of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice via NF- κ B and MAPK signaling inactivation // *Int. Immunopharmacol.* 2014. Vol. 23. P. 170-178.
19. Pan L.L., Wang A.Y., Huang Y.Q., Luo Y., Ling M. Mangiferin induces apoptosis by regulating Bcl-2 and bax expression in the CNE2 nasopharyngeal carcinoma cell line // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014. Vol. 15. P. 7065-7068.
20. Wang M., Liang Y., Chen K. et al. The management of diabetes mellitus by mangiferin: advances and prospects // *Nanoscale.* 2022. Vol. 14 (6). P. 2119-2135.
21. Matkowski A., Kus P., Goralska E., Wozniak D. Mangiferin—a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant // *Mini reviews in medicinal chemistry.* 2013. № 13(3). P. 439-455.
22. Gold-Smith F., Fernandez A., Bishop K. Mangiferin and cancer: Mechanisms of action // *Nutrients.* 2016. Vol. 8 (7). P. 396.
23. Yang Z., Weian C., Susu H., Hanmin W. Protective effects of mangiferin on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms // *Eur. J. Pharmacol.* 2016. Vol. 771. P. 145–151.
24. Du S., Liu H., Lei T. et al. Mangiferin: An effective therapeutic agent against several disorders // *Molecular medicine reports.* 2018. Vol. 18 (6). P. 4775-4786.
25. Telang M., Dhulap S., Mandhare A., Hirwani R. Therapeutic and cosmetic applications of mangiferin: A patent review // *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* 2013. Vol. 23 (12). P. 1561-1580.
26. Saha S., Sadhukhan P., Sil P.C. Mangiferin: A xanthonoid with multipotent anti-inflammatory potential // *Biofactors.* 2016. Vol. 42 (5). P. 459-474.
27. Jangra A., Arora M. K., Kisku A., Sharma S. The multifaceted role of mangiferin in health and diseases: A review // *Advances in Traditional Medicine.* 2021. Vol. 21. P. 619-643.

28. Lum P.T., Sekar M., Gan S.H., Pandey V., Bonam S.R. Protective effect of mangiferin on memory impairment: a systematic review // *Saudi journal of biological sciences*. 2021. Vol. 28 (1). P. 917-927.
29. Wu Z., Wei G., Lian G., Yu B. Synthesis of mangiferin, isomangiferin, and homomangiferin // *J. Organic. Chem.* 2010. Vol. 75 (16). P. 5725–5728.
30. Faizi S., Zikr-Ur-Rehman S., Ali M., Naz A. Temperature and solvent dependent NMR studies on mangiferin and complete NMR spectral assignments of its acyl and methyl derivatives // *Magn Reson Chem.* 2006. Vol. 44 (9). P. 838–844.
31. Fujita M., Inoue T. Biosynthesis of mangiferin in *Anemarrhena asphodeloides* Bunge- The origin of the xanthone nucleus // *Chem. Pharm. Bull.* 1980. Vol. 28. P. 2476-2481.
32. Sekar M. Molecules of interest–mangiferin–a review // *Annual research & review in biology*. 2015. Vol. 5 (4). P. 307-320.
33. Wei X., Liang D., Wang Q., Meng X., Li Z. Total synthesis of mangiferin, homomangiferin, and neomangiferin // *Organic & biomolecular chemistry*. 2016. Vol. 14 (37). P. 8821-8831.
34. Imran M., Arshad M.S., Butt M.S. et al. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders // *Lipids in health and disease*. 2017. Vol. 16 (1). P. 1-17.
35. Lv J., Wang Z., Zhang L. et al. Mangiferin induces apoptosis and cell cycle arrest in MCF-7 cells both in vitro and in vivo // *J. Anim. Vet. Adv.* 2013. Vol. 12. P. 352-359.
36. Lei J., Zhou C., Hu H. et al. Mangiferin aglycone attenuates radiation-induced damage on human intestinal epithelial cells // *J. Cell. Biochem.* 2012. Vol. 113. P. 2633-2642.
37. Zhang W., Li P., Gong Y., Gao X. Mangiferin Aglycone Crystal form i and Preparation Method Thereof. Google Patents EP 2716637 A1, 9 April 2014.
38. Wang Z., Deng J., Wang Q., Li X., Wei H. Improvement in the solubility of mangiferin by HP- β -CD inclusion. *Chin Tradit Patent Med.* 2008.

39. Han D., Chen C., Cong Z., Yu Z., Xing T. Determination of mangiferin in rat plasma by liquid-liquid extraction with UPLC-MS/MS // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010. Vol. 51. P. 260-263.
40. Mei S., Perumal M., Battino M. et al. Mangiferin: a review of dietary sources, absorption, metabolism, bioavailability, and safety // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021. P. 1-19.
41. Мангогерпін. <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=5216>
42. Ковалев В.Н., Михайленко О.А., Исаев Д.И., Гурбанов Г.М. Количественное определение мангиферина в корневищах *Iris hungarica* и *Iris sibirica* методом ВЭЖХ // *Azərbaycan əczaçiliq və farmakoterapiya jurnalı*. 2016. № 1. С. 13-17.
43. Isaev D.I., Kovalev V.N., Gurbanov G.M., Mykhailenko O.A. Quantitative determination of mangiferin in some species of the genus *Iris* (Iridaceae) of flora Azerbaijan by HPLC // *Rastitel'nye resursy*. № 51 (3). С. 444-448.
44. Јевремовић С., Крстић-Милошевић Д., Антонић Д., Момчилов М. Т., Лојић М., Суботић А. Култура ткива и криопрезервација као методе за повећање продукције мангиферина код балканске перунике (*Iris Reichenbachii* Neuffel) // Скуп, 7 (2): Зборник радова III Симпозијума биолога и еколога Републике Српске (СБЕРС 2015) II, Бања Лука, 12–14. новембар 2015. Природно-математички факултет Универзитета у Бањој Луци, 2016. С. 41-53.
45. Vo T.H.T., Nguyen T.D., Nguyen Q.H., Ushakova N.A. Isolation of mangiferin from leaves of mango tree (*Mangifera indica* L.) and evaluation of its biological activity with respect to α -glucosidase blocking // *Chimiko-pharmaceutical journal*. 2017. Vol. 51 (9). P. 44-48.
46. Imachuyeva D.R., Serebryanaya F.K., Zilfikarov I.N. Quantitative determination of xanthone sum in terms of mangiferin in acrian organs of species of genus *Hedysarum* L. by UV spectrophotometry // *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2020. No3. P. 179-186.

47. Qiu X., Zhao J. L., Hao C. et al. Simultaneous determination of mangiferin and neomangiferin in rat plasma by UPLC–MS/MS and its application for pharmacokinetic study // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016. Vol. 124. P. 138-142.
48. Zhang X., Su B., Li J. et al. Analysis by RP-HPLC of mangiferin component correlation between medicinal loranthus and their mango host trees // *Journal of chromatographic science*. 2014. Vol. 52 (1). P. 1-4.
49. วิไล พรณ สี่ ปรีชา นนท์. Quantitative determination of mangiferin isolated from leaves of *Mangifera indica* L. variety Nam Doc Mai using HPTLC and its DPPH scavenging activity // *รายงานการประชุม วิชาการ และ นำเสนอ ผล การวิจัย ระดับ ชาติ และ นานาชาติ กลุ่ม นานาชาติ*. 2015. Vol. 1(6). P. 163-173.
50. Jalalvand A.R. Fabrication of a novel amperometric sensing platform for determination of mangiferin // *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2020. Vol. 29. Article 100352.
51. Hoyos-Arbeláez J., García G. R., Arévalo F. J. et al. Electrochemical determination of mangiferin using glassy carbon electrodes modified with carbonaceous nanomaterials // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2018. Vol. 808. P. 1-7.
52. Padh H., Parmar S., Patel B. Stability indicating HPTLC method for estimation of mangiferin in bulk and dosage form // *Int J Pharm Biol Sci*. 2017. Vol. 7. P. 71-77.
53. Chaudhary S.K., Walia V., Singh V., Sethiya N.K. Thin-layer chromatographic analysis of mangiferin (a bioactive antioxidant from dietary plant sources): a mini-review // *JPC–Journal of Planar Chromatography–Modern TLC*. 2020. Vol. 33 (4). P. 341-352.
54. Rasyid R., Ruslan R., Mawaddah S., Rivai H. Quantitative determination of mangiferin in methanol extract of bacang mango (*Mangifera Foetida* L.) leaves by thin-layer chromatography densitometry // *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. Vol. 9, Issue 7. P. 1551-1560.

55. Xu W., Deng J., Qian Y. et al. Simultaneous determination of kaempferol, quercetin, mangiferin, gallic acid, p-hydroxybenzoic acid and chlorpheniramine maleate in rat plasma after oral administration of Mang-Guo-Zhi-Ke tablets by UHPLC-MS/MS and its application to pharmacokinetics // *Biomedical Chromatography*. 2018. Vol. 32 (4). Article e4155.
56. Komsta L., Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J. (Eds.). *Thin layer chromatography in drug analysis*. CRC Press. 2013. 1030 p.
57. Lewis Jackson. Тонкошарова хроматографія: характеристики, для чого вона призначена. <https://uk.warbletoncouncil.org/cromatografia-capafina-11112>.
58. Спектрофотометрія. Фармацевтична енциклопедія. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/596/spektrofotometriya>.
59. Ultraviolet–visible spectroscopy. https://en.wikipedia.org/wiki/Ultraviolet%E2%80%93visible_spectroscopy
60. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
61. Acosta J., Sevilla I., Salomón S. et al. Determination of mangiferin solubility in solvents used in the biopharmaceutical industry // *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. 2016. Vol. 4 (2). P. 49-53.
62. Имачуева Д.Р., Серебряная Ф.К., Зилфикаров И.Н. Количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземных органах видов рода копеечник (*Hedysarum* L.) методом УФ-спектрофотометрии // *Химия растительного сырья*. 2020. № 3. С. 179–186.

63. Han D., Chen C., Zhang C., Zhang Y., Tang, X. Determination of mangiferin in rat plasma by liquid–liquid extraction with UPLC–MS/MS // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2010. Vol. 51, № 1. P. 260-263.
64. Romero D.J.A., Nuva-Paz L, López M., Ferrada C., Carballo C. Validation of a High Performance Liquid Chromatography technique for determination of mangiferin content in *Mangifera indica* L. leaves // *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2014. Vol. 19 (1). P. 167-178.
65. Jalalvand Ali R. Fabrication of a novel amperometric sensing platform for determination of mangiferin // *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2020. Vol. 29. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2020.100352>
66. Tajik S., Ali Taher M., Beitollahi H. The first electrochemical sensor for determination of mangiferin based on an ionic liquid–graphene nanosheets paste electrode // *Ionics*. 2014. Vol. 20. P. 1155–1161.
67. Имачуева Д.Р., Серебряная Ф.К. Использование метода капиллярного электрофореза при определении количественного содержания мангиферина в траве видов рода копеечник (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.) флоры Северного Кавказа // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021. № 10 (1). С. 90-96.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Міністерство охорони здоров'я України
Міністерство освіти і науки України
Національний фармацевтичний університет
Кафедра фармацевтичної хімії
Кафедра медичної хімії
Кафедра загальної хімії
Кафедра аналітичної хімії та аналітичної токсикології



СЕРТИФІКАТ №335

Цим засвідчується, що

Хізрі Ранія

брав (-ла) участь у Міжнародній internet-конференції
«Modern chemistry of medicines»
(тривалість - 8 годин)
18 травня 2023 р., м. Харків, Україна

Посвідчення Державної наукової
установи «Український інститут
науково-технічної експертизи та
інформації» № 550 від 19.12.2022 року

В. о. ректора НФаУ, проф.

Проректор з науково-педагогічної
роботи, проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Міністерство охорони здоров'я України
Міністерство освіти і науки України
Національний фармацевтичний університет
Кафедра фармацевтичної хімії
Кафедра медичної хімії
Кафедра загальної хімії
Кафедра аналітичної хімії та аналітичної токсикології

Ministry of health of Ukraine
Ministry of education and science of Ukraine
National university of pharmacy
Pharmaceutical chemistry department
Medicinal chemistry department
General chemistry department
Analytical chemistry and analytical toxicology department

MODERN CHEMISTRY OF MEDICINES

Матеріали
Міжнародної Internet-конференції «Modern chemistry of medicines»,
18 травня 2023 року

Materials
of the International Internet Conference 'Modern chemistry of medicines',
May 18, 2023

ХАРКІВ
KHARKIV
2023

ПІДБІР МЕТОДИК ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МАНГІФЕРИНУ

Яромій М.В., Хізрі Ранія, Половко Н.П., Бевз Н.Ю.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

nata.bevz.60@gmail.com

Вступ. На сьогодні перспективною субстанцією природного походження є мангіферин, що належить до природних похідних ксантону і вперше виділений з листя та кори дерева манго (*Mangifera indica* L.). Мангіферин міститься у надземній частини *Iris unguicularis*, кореневищах *Anemarrhena asphodeloides* і листях *Bombax ceiba*. В незначних кількостях зустрічається в рослинах родин *Salacia* і *Cyclopia*, у кавовому листі та деяких видах крокусів.

Експериментальні фармакологічні дослідження мангіферину свідчать про антиоксидантні, протизапальні, противірусні властивості речовини. Встановлено, що сполука підвищує здатність системи моноцитів-макрофагів і володіє антибактеріальною активністю проти грампозитивних та грамнегативних бактерій. Показаннями до застосування є герпетичні та інші вірусні захворювання, онкологічні захворювання людини, такі як рак легень, товстої кишки, молочної залози та нейронів.

Мета. Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення мангіферину в субстанції.

Матеріали та методи. Об'єкт дослідження мангіферин (1,3,6,7-тетрагід-рокси-2-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)оксан-2-іл]-9Н-ксантен-9-он) (містить 99,5 % мангіферину, виробник Shaanxi, Китай). Для випробувань використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) на ТШХ-пластинках із шаром силікагелю та флуоресцентним індикатором F₂₅₄ (с. НХ04954354, Merk, Німеччина) та абсорбційну спектрофотометрію (спектрофотометр «Evolution 60s»).

Результати та їх обговорення. Для ідентифікації мангіферину методом ТШХ як розчинник використовували 70 % спирт, у якому сполука дуже добре розчинна, рухома фаза – суміш розчинників н-бутанол : оцтова кислота : вода у співвідношенні 80:20:10, детектування проводили шляхом переглядання хроматограм в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. R_f основної плями випробовуваної речовини становить 0,55. Для використання методу абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці (220 нм до 400 нм) в аналізі мангіферину встановили, що абсорбційний спектр поглинання 0,004% спиртового розчину речовини характеризується наявністю чотирьох максимумів при довжинах хвиль 241 нм, 259 нм, 320 нм і 373 нм. За аналітичну довжину хвилі обраний максимум при 373 нм, у якому підпорядкування спиртових розчинів закону Бугера-Ламберта-Бера становить від 0,002 мг/мл до 0,020 мг/мл і $A_{1\text{см}}^{1\%} 428 \pm 5,26$.

Висновки. Запропоновані методики ідентифікації і кількісного визначення мангіферину можуть бути використані в аналізі речовини при її визначенні в субстанції та в лікарській рослинній сировині.

Национальный фармацевтический университет

Факультет по подготовке иностранных граждан
Кафедра фармацевтической химии
Уровень высшего образования магистр
Специальность 226 Фармация, промышленная фармация
Образовательная программа Фармация

УТВЕРЖДАЮ
Заведующая кафедрой
фармацевтической химии

Виктория ГЕОРГИЯНЦ
“24” августа 2022 года

ЗАДАНИЕ
НА КВАЛИФИКАЦИОННУЮ РАБОТУ
СОИСКАТЕЛЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

Рании ХИЗРИ

1. Тема квалификационной работы: «Разработка методик идентификации и количественного определения мангиферина», руководитель квалификационной работы: Наталия БЕВЗ, к.фарм.н., доцент.

утвержденный приказом НФаУ от “06” февраля 2023 года № 35

2. Срок подачи соискателем высшего образования квалификационной работы: апрель 2023 г.

3. Исходные данные к квалификационной работе: Изучить перспективы применения в медицинской практике мангиферина (1,3,6,7-тетрагидрокси-2-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил]-9H-ксантен-9-он), природные источники получения и методы синтеза. Обобщить научные источники литературы по существующим методам идентификации и количественного определения мангиферина.

4. Содержание расчетно-пояснительной записки (перечень вопросов, которые необходимо разработать): Изучив физико-химические свойства мангиферина и его структуру, предложить химические и физико-химические методы контроля качества. Подобрать условия для идентификации мангиферина методом тонкослойной хроматографии и количественного определения – методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой области.

5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):
таблиц – 3, рисунков – 7, схем – 3

6. Консультанты разделов квалификационной работы

Раздел	Имя, ФАМИЛИЯ, должность консультанта	Подпись, дата	
		задание выдал	задание принял
1	Наталия БЕВЗ, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	29.08.2022	29.08.2022
2	Наталия БЕВЗ, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	12.09.2022	12.09.2022
3	Наталия БЕВЗ, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	26.09.2022	26.09.2022

7. Дата выдачи задания: «24» августа 2022 года

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

№ з/п	Название этапов квалификационной работы	Срок выполнения этапов квалификационной работы	Примечание
1	Обобщение данных научной литературы по фармакологической активности, методам синтеза и анализа мангиферина	Ноябрь 2022 г.	выполнено
2	Провести анализ фармацевтического рынка о наличии препаратов с мангиферином	Декабрь 2022 г.	выполнено
3	Разработать методики идентификации мангиферина	Январь – февраль 2023 г.	выполнено
4	Разработать методику количественного определения мангиферина	Февраль – март 2023 г.	выполнено
5	Оформление и подача квалификационной работы в Экзаменационную комиссию	Март – апрель 2023 г.	выполнено

Соискатель высшего образования

_____ Рания ХИЗРИ

Руководитель квалификационной работы

_____ Наталия БЕВЗ

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 35
По Національному фармацевтичному університету
від 06 лютого 2023 року

нижченаведеним студентам 5-го курсу 2022-2023 навчального року, навчання за освітнім ступенем «магістр», галузь знань 22 охорона здоров'я, спеціальності 226 – фармація, промислова фармація, освітня програма – фармація, денна форма здобуття освіти (термін навчання 4 роки 10 місяців та 3 роки 10 місяців), які навчаються за контрактом, затвердити теми кваліфікаційних робіт:

Прізвище студента	Тема кваліфікаційної роботи		Посада, прізвище та ініціали керівника	Рецензент кваліфікаційної роботи
• по кафедрі фармацевтичної хімії				
Хізрі Ранія	Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення мангіферину	Development of methods for identification and quantification of mangiferin	доц. Бевз Н.Ю.	доц. Сич І.А.

Підстава: подання декана, згода ректора

Ректор

Вірно. Секретар



ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 112528 від « 24» квітня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Хізрі Ранія, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення мангіферину / Development of methods for identification and quantification of mangiferin», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копії).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

1%

27%

ОТЗЫВ

научного руководителя на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация

Рании ХИЗРИ

на тему: «Разработка методик идентификации и количественного определения мангиферина»

Актуальность темы. В последние годы растительные препараты приобретают все большую популярность в фармакотерапии многих заболеваний. Интерес к применению лекарств, полученных из растительного сырья, обусловлен достаточной нетоксичностью, безвредностью, относительной доступностью, эффективностью и в некоторых случаях комплексным действием. К таким веществам относится мангиферин, выделенный впервые из манго и обладающий широким спектром фармакологической активности.

Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность. При выполнении квалификационной работы подобраны растворитель, условия, неподвижная и подвижная фазы и детектор для идентификации мангиферина методом тонкослойной хроматографии. Разработана методика спектрофотометрического количественного определения вещества, которая метрологически аттестована.

Оценка работы. Работа выполнена на высоком научном уровне, с использованием современного оборудования, применяемого в фармации. Материал представлен последовательно и логично, выводы обоснованы и соответствуют целям и задачам исследования.

Общий вывод и рекомендации о допуске к защите. Работа отвечает всем требованиям, которые предъявляются к квалификационным работам и может быть представлена в Экзаменационную комиссию для рассмотрения.

Научный руководитель

Наталия БЕВЗ

«07» апреля 2023 г.

РЕЦЕНЗИЯ

на квалификационную работу уровня высшего образования магистр
специальности 226 Фармация, промышленная фармация

Рании ХИЗРИ

на тему: «Разработка методик идентификации и количественного
определения мангиферина»

Актуальность темы. Перспективной субстанцией природного происхождения является мангиферин, принадлежащий к природным производным ксантона и проявляющий антиоксидантные, противовоспалительные и противовирусные свойства. Впервые выделенный из листьев и коры дерева манго, на сегодняшний день получен синтетически.

Теоретический уровень работы. В работе использованы современные методы анализа. Применяются современные методические подходы и методики, позволяющие в полном объеме достичь поставленных целей и задач исследования.

Предложения автора по теме исследования. В результате проведенных исследований разработаны и предложены условия методики идентификации мангиферина методом тонкослойной хроматографии и количественного определения – методом абсорбционной спектрофотометрии.

Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность. Представленные в работе результаты исследований могут использоваться для включения в методики контроля качества мангиферина в субстанции и в лекарственном растительном сырье.

Недостатки работы. По тексту встречаются ошибки, неудачные выражения, не влияющие на общую положительную оценку работы.

Общий вывод и оценка работы. Работа актуальна, имеет элементы научной новизны и практического значения, а также отвечает всем требованиям и может быть представлена к рассмотрению в Экзаменационной комиссии.

Рецензент _____

доц. Ирина СЫЧ

«14» апреля 2023 г.

ПРОТОКОЛ № 10
засідання кафедри фармацевтичної хімії
Національного фармацевтичного університету
від 21 квітня 2023 р.

ПРИСУТНІ:

Георгіянц В. А. зав.каф., проф., Власов С. В. проф., Сидоренко Л. В. проф., Бевз Н. Ю. доц., Бур'ян Г. О., доц., Гарна Н. В. доц., Грудько В. О. доц., Головченко О. С. доц., Горохова О. В. доц., Гриненко В.В. доц., Колісник О.В. доц., Северіна Г. І. доц., Михайленко О. О. доц., Григорів Г.В. асис.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ: заслухати звіти про стан виконання кваліфікаційних робіт.

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти Ранії ХІЗРІ, студентки факультету з підготовки іноземних громадян на тему: «Розробка методик ідентифікації і кількісного визначення мангіферину», керівник доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії, к.ф.н. Наталія БЕВЗ.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Ранії ХІЗРІ до офіційного захисту в ЕК.

Голова

Зав. кафедри, доктор фарм. наук, проф. _____ Вікторія ГЕОРГІЯНЦ
(підпис)

Секретар

канд. фарм. наук, доц. _____ Олена КОЛІСНИК

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Ранія ХІЗРІ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Розробка методик ідентифікації і кількісного визначення мангіферину».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Світлана КАЛАЙЧЕВА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Ранія ХІЗРІ за результатами проведеної роботи проявила себе як грамотний та підготовлений фахівець. Виконала поставлені завдання досліджень на високому науковому рівні, що дозволило досягти у повному обсязі мету досліджень. Робота оформлена у відповідності до діючих вимог, тому може бути представлена до розгляду в Екзаменаційну комісію..

Керівник кваліфікаційної роботи

Наталія БЕВЗ

«07» квітня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Ранія ХІЗРІ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

«21» квітня 2023 р.

Квалификационную работу защищено
в Экзаменационной комиссии

« » июня 2023 г.

С оценкой _____

Председатель Экзаменационной комиссии,
доктор фармацевтических наук, профессор

_____ //