



Технический Комитет по
Стандартизации ТК 450
«Лекарственные Средства»

ВОПРОСЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ





Дорогие друзья, уважаемые коллеги!

Научно-практический журнал «Вопросы обеспечения качества лекарственных средств» издается с 2013 года периодичностью 4 номера в год. Несмотря на сложный период, связанный с распространением коронавирусной инфекции, нам удалось сохранить высокий уровень публикационной активности и отбора качественных материалов для включения в периодическое издание. Мы входим в перечень ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отражены в РИНЦ, а также поэтапно продвигаемся к индексированию в известных международных базах данных. Начиная с 2019 года выпускается англоязычная версия журнала для выхода в международное научное пространство. Приглашаем к сотрудничеству всех заинтересованных лиц для продуктивного взаимодействия и наполнения контента издания.

С уважением,

Главный редактор, профессор

А.А. Маркарян

Зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

ISSN №2309-6039

ПИ № ФС 77-53661
от 10 апреля 2013 года

© **НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
«ВОПРОСЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»**

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук в соответствии с письмом Минобрнауки от 01.12.2015 № 13-6518.

Перепечатка материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного согласия редакции

Адрес редакции: 115088 Москва, ул. Шарикоподшипниковская, д. 9. РООИ «Здоровье человека»

Корректор:

Дидевич Алексей Владимирович

Верстка:

Ермакова Екатерина Владимировна

Тел.: 8 (495) 674-65-22

8 (926) 917 61 71

E-mail: journal@humanhealth.ru

www.humanhealth.ru

Индекс в каталоге Агентства «Роспечать» (Издания органов научно-технической информации) по России: 57958

Издательство

РООИ «Здоровье человека»

E-mail: izdat@humanhealth.ru

Полиграфическое сопровождение:

типография

«Московский печатный двор»

Тел.: (495) 7816411, (495) 5455812,

www.printyard.ru

Тираж 3000 экз.

Заказ №2112

ВОПРОСЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

JOURNAL OF PHARMACEUTICALS QUALITY ASSURANCE ISSUE

Научно-практический журнал
Центральное рецензируемое издание
Выходит ежеквартально с августа 2013 года
A Quarterly Edition. Published since August 2013

Главный редактор



А.А. Маркарян,
д-р фарм. наук, профессор

Заместители главного редактора



И.В. Маев, д-р мед. наук,
профессор, академик РАН



Е.И. Саканян,
д-р фарм. наук, профессор

Ответственный секретарь – К.А. Красильникова, канд. фарм. наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Арзамасцев Е.В., д.м.н.,
профессор (Москва)

Вольская Е.А., к.и.н. (Москва)

Глазкова Т.Ю., к.т.н., доцент
(Москва)

Даргаева Т.Д., д.ф.н., профессор
(Москва)

Дурнев А.Д., д.м.н., профессор,
чл.-кор. РАН (Москва)

Евдокимова О.В., д.ф.н.
(Москва)

Заборовский А.В., д.м.н.
(Москва)

Косова И.В., д.ф.н.,
профессор (Москва)

Лоскутова Е.Е., д.ф.н.,
профессор (Москва)

Лякина М.Н., д.ф.н. (Москва)

Максимкина Е.А., д.ф.н.,
профессор (Москва)

Сайбель О.Л., к.ф.н. (Москва)

Солонина А.В., д.ф.н.,
профессор (Пермь)

Цындымеев А.Г., к.ф.н. (Москва)

Эйгель М.Я., к.э.н. (Москва)

Ягудина Р.И., д.ф.н., профессор
(Москва)



СОДЕРЖАНИЕ

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ МИКРОЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНРОФЛОКСАЦИНА ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ	4	ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ ПРИМЕНЕНИЕ УРАВНЕНИЙ ХЕККЕЛЯ И КАВАКИТЫ В ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК ГСБ-106	42
З.Р. Якупова, С.Ю. Гармонов, К.С. Вах, А.В. Булатов		В.В. Буева, Е.В. Блынская, К.В. Алексеев, С.В. Тишков, С.В. Минаев	
АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПОЛИКОМПОНЕНТНОГО ГЕЛЯ РЕПАРАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ	15	УПРАВЛЕНИЕ И ЭКОНОМИКА ФАРМАЦИИ ИССЛЕДОВАНИЕ ОТНОШЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ К ВОПРОСУ САМОЛЕЧЕНИЯ СРЕДИ ПОДРОСТКОВ	48
Е.Б. Никифорова, К.И. Мелконян, Д.В. Веселова, А.Г. Нечаева, Я.А. Козмай, Т.В. Русинова		А.А. Сеницына, М.Н. Денисова, Т.М. Литвинова	
ОБЩИЕ ПОДХОДЫ К ВАЛИДАЦИИ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ ДЛЯ РЕМИНЕРАЛИЗАЦИИ ЭМАЛИ	20	ОБЗОР ПЕРСПЕКТИВЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ВИДОВ РОДА АРАЛИЯ (ARALIA SSP.)	55
А.Л. Голованенко, Е.С. Березина, И.В. Алексеева		Д.А. Некрасова, М.Н. Пovyдыш, Н.С. Пивоварова, М.Ю. Гончаров	
ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА SATUREJA MONTANA L. И ЕГО КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ПРИ РАЗНЫХ ВИДАХ ФЕРМЕНТАЦИИ	27		
Е.В. Бурцева, Е.В. Кулдыркаева, И.С. Мехоношина			
ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТРЕХРЕБЕРНИКЕ НЕПАХУЧЕМ ЦВЕТКАХ	33		
О.Л. Блинова, А.А. Гилева, В.Д. Белоногова			

CONTENTS

PHARMACEUTICAL ANALYSIS

AND QUALITY CONTROL OF PHARMACEUTICALS

MICROEXTRACTION ISOLATION OF ENROFLOXACIN FOR SUBSEQUENT DETERMINATION IN DRUGS BY HPLC METHOD 4

Z.R. Yakupova, S.Yu. Garmonov,
K.S. Vakh, A.V. Bulatov

TOPICAL QUESTIONS OF QUALITY ASSESSMENT OF A POLYCOMPONENT REPARATIVE GEL 15

E.B. Nikiforova, K.I. Melkonyan,
D.V. Veselova, A.G. Nechaeva,
Ya.A. Kozmay, T.V. Rusinova

GENERAL APPROACHES TO THE VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS IN DOSAGE FORMS FOR ENAMEL REMINERALIZATION 20

A.L. Golovanenko, E.S. Berezina,
I.V. Alexeeva

STUDY OF THE ESSENTIAL OIL CONTENT OF SATUREJA MONTANA L. AND ITS COMPONENT COMPOSITION IN DIFFERENT TYPES OF FERMENTATION 27

Yel.V. Burtseva, E.V. Kuldyrkaeva,
I.S. Mekhonoshina

VALIDATION OF THE TECHNIQUE FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE SUM OF FLAVONOIDS IN THE TRIPLEUROSpermum INODORUM FLORES 33

O.L. Blinova, A.A. Gileva,
V.D. Belonogova

FORMULATION OF MEDICINES

USE OF THE HECKEL AND KAWAKITA EQUATIONS IN GSB-106 TABLETS TECHNOLOGY 42

V.V. Bueva, E.V. Blynskaya,
K.V. Alekseev, C.V. Tishkov,
S.V. Minaev

PHARMACY MANAGEMENT AND ECONOMICS

THE STUDY OF THE ATTITUDE OF PHARMACEUTICAL WORKERS TO THE ISSUE OF SELF-MEDICATION AMONG ADOLESCENTS 48

A.A. Sinitsyna, M.N. Denisova,
T.M. Litvinova

REVIEW

PROSPECTS OF OBTAINING AND INVESTIGATION CELL CULTURES OF ARALIA SSP. 55

D.A. Nekrasova, M.N. Povydysh,
N.S. Pivovarova, M.Yu. Goncharov

УДК 615.074

<https://www.doi.org/10.34907/JRQAI.2022.18.98.001>

МИКРОЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНРОФЛОКСАЦИНА ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ

З.Р. Якупова, аспирант кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества, ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, yakupovalab@yandex.ru

С.Ю. Гармонов, доктор хим. наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества, ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, serggar@mail.ru

К.С. Вах, канд. хим. наук, доцент кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, kristina-fulmes@mail.ru

А.В. Булатов, доктор хим. наук, профессор кафедры аналитической химии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, bulatov_andrey@mail.ru

Разработан способ хроматографического определения энрофлоксацина в лекарственных препаратах и смывах с технологического оборудования, включающий микроэкстракционное выделение действующего вещества из раствора пробы путем *in situ* генерирования фазы экстрагента и его диспергирование в результате вращения хлопкового диска. При перемешивании и одновременном нагревании системы растворителей и аналита наблюдается образование центральной воронки, где формируется капля органического экстракта при последующем разрушении эмульсии. Охлаждение экстракционной системы способствует кристаллизации экстракта, который отбирается для последующего ВЭЖХ-УФ определения. Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций от 32 до 996 мкг/мл ($S=372C$). Достигается предел обнаружения (3σ) 0,99 мкг/мл. ОСКО не превышало 10% ($n=5$). Среднее значение степени извлечения составило 96%. Аналитические возможности разработанного способа апробированы при анализе лекарственных препаратов.

Ключевые слова: микроэкстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография, энрофлоксацин, лекарственные препараты

Энрофлоксацин (1-циклопропил-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-6-фтор-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота) – антибактериальный препарат из группы фторхинолонов [1–4]. Энрофлоксацин нашел применение в ветеринарии в лечении инфекций кожи и мягких тканей, мочеполовой системы, желудочно-кишечных и других инфекционных заболеваний [5–8].

Для определения энрофлоксацина в различных пробах используют такие методы, как высокоэффективная жидкостная хроматография с флуоресцентным обнаружением (ВЭЖХ-ФЛД), высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием на диодной матрице (ВЭЖХ-DAD), турбулентная проточная хроматография с тандемной масс-спектрометрией (ТПХ-МС/МС), и другие [9–11]. Но, как правило, методы ВЭЖХ

для определения фторхинолонов в биологическом материале включают трудоемкие этапы жидкостной экстракции и очистки перед хроматографией.

Однако, помимо определения в лекарственных препаратах и биологическом материале, малые содержания действующих веществ необходимо определять в почве, поверхностных и подземных водах. Попадание антибактериальных средств в сточные воды возможно из-за ненадлежащей утилизации лекарственных препаратов и промывных вод после производственного процесса. Особое значение при этом также приобретают подходы по контролю чистоты технологического оборудования после его очистки в соответствии с принципами GMP [12,13].

В современной фармацевтической химии с целью выделения активных фармацевтических субстанций из различных матриц активно применяют методы жидкостной и твердофазной микроэкстракции, позволяющие упростить процедуры пробоподготовки, обеспечивая ее высокую эффективность при минимальных расходах реагентов и проб [14]. В частности, жидкостная микроэкстракция заключается в использовании сравнительно малого объема экстрагента (0,5–100 мкл), что позволяет значительно увеличить коэффициент концентрирования. Процедура основана на быстром введении в анализируемый раствор смеси неполярного экстрагента и растворителя-диспергатора, неограниченно смешивающегося с ним и пробой, в результате фаза экстрагента распределяется в виде тонкодисперсной эмульсии. Разделение фаз достигается центрифугированием или другим приемом отделения, и в дальнейшем органическую фазу отбирают для проведения анализа. Для упрощения процедуры отделения фазы экстракта предложено использовать ее кристаллизацию при охлаждении экстракционной системы [14]. При этом применяются экстрагенты с температурой кристаллизации, близкой к комнатной,

например, такие длинноцепочечные спирты, как 1-ундеканол [15,16] и 1-додеканол [17,18]. Однако введение полярного растворителя (диспергатора) приводит к повышению растворимости аналита и экстрагента в водной фазе, результатом чего является снижение коэффициента распределения [19].

Цель данной работы – изучение возможности выделения энрофлоксацина из анализируемых матриц твердофазной микроэкстракцией / жидкостной экстракцией с последующим определением действующего вещества методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Хроматографические определения проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с ультрафиолетовым детектором. В процессе исследования были использованы следующие реактивы: ацетонитрил (класс «for HPLC», PanReac, Испания); трифторуксусная кислота (класс «for HPLC», PanReac, Испания); метанол (класс «х.ч.», ООО «ТД «Химмед», Россия); ортофосфорная кислота (класс «х.ч.», ООО «Компонент-Реактив», Россия); вода очищенная (класс чистоты I). Использовался стандартный образец энрофлоксацина-основания (EDQM, Индия). Стандартный раствор энрофлоксацина с концентрацией 2000 мкг/мл готовили путем растворения точной навески стандартного образца в 0,17% растворе ортофосфорной кислоты. Раствор использовали свежеприготовленным.

При пробоподготовке около 0,025 г (точная навеска) исследуемого препарата, содержащего энрофлоксацин, помещали в стеклянный флакон, прибавляли воды очищенной до 3 мл и интенсивно встряхивали смесь в течение 1 мин. Заранее приготовленный хлопковый диск, пропитанный 1-додеканолом,

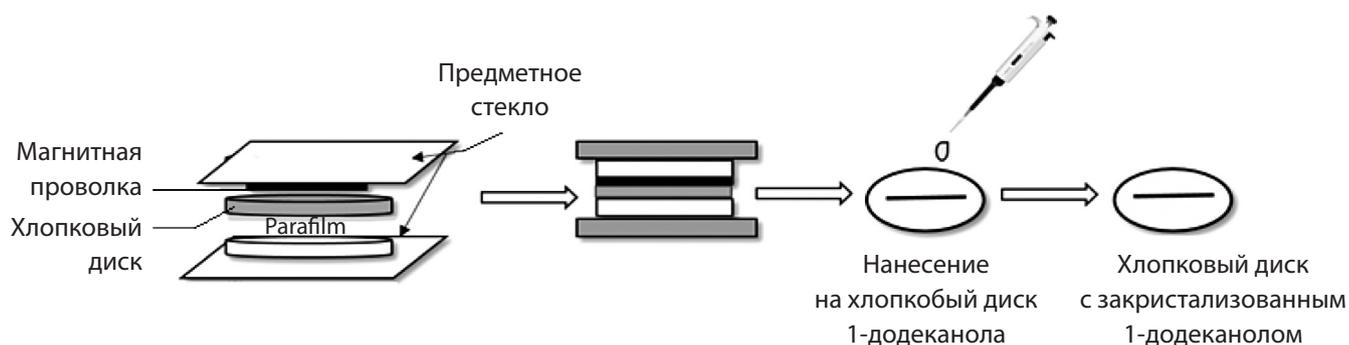


РИС. 1. Схематичное изображение изготовления хлопкового диска

помещали во флакон с гомогенным раствором пробы. Хлопковый диск вращали со скоростью 560 об/мин в течение 10 мин. на лабораторной магнитной мешалке IKA RH (IKA, Германия) при 60°C, чтобы вызвать фазовый переход 1-додеканола в жидкое состояние. Затем для кристаллизации капли 1-додеканола стеклянный флакон помещали в баню с ледяной водой, и флотированный органический растворитель затвердевал через короткий промежуток времени. После этого закристаллизовавшуюся фазу экстракта аккуратно переносили в микропробирку с помощью шпателя, растворяли в 300 мкл метанола при комнатной температуре и вводили раствор в хроматографическую систему.

Для приготовления хлопковых дисков использовали хлопковое полотно и лабораторную пленку Parafilm M (Bemis, США), из которых вырезали диски с внутренним диаметром 10±1 мм. Затем каждый диск из хлопкового полотна аккуратно разделяли на два слоя. Пленку

Parafilm M и вкладыш магнитной мешалки (металлическая проволока, длина 10 мм, внутренний диаметр 1 мм) помещали между двумя слоями хлопка. Систему накрывали двумя предметными стеклами и помещали в сушильный шкаф (100°C, 10 мин.) для плавления пленки Parafilm M и склеивания дисков между собой. На диск помещали 50 мкл расплавленного 1-додеканола (30°C). При охлаждении 1-додеканол кристаллизовался на диске. Диски хранили в холодильнике в эксикаторе (рис. 1).

Хроматографические определения осуществляли при использовании колонки Atlantis T3 C18, 150×4,6 мм, 5 мкм (Waters, США), предколонки Phenomenex SecurityGuard TM, Cartridges Widespore C18, 4×3,0 мм. Температура термостата составляла 40°C. Подвижная фаза: 0,05% раствор трифторуксусной кислоты в воде (элюент А); ацетонитрил (элюент В). Градиент состава подвижной фазы представлен в табл. 1. Объем вводимой пробы составлял 5 мкл. Время удерживания энрофлоксацина: около 5,7 мин. Время регистрации хроматограммы: 0–12,5 мин. Детектирование проводилось УФ-детектором при длине волны поглощения 350±2 нм. Частота регистрации сигнала детектора: 5 Гц.

Таблица 1

ГРАДИЕНТ СОСТАВА ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

Время, мин.	Скорость потока, мл/мин	Элюент А, %	Элюент В: ацетонитрил, %
0–8	1	80 → 70	20 → 30
8–8,2	1	70 → 80	30 → 20
8,2–12,5	1	80	20

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для повышения коэффициентов концентрирования малых содержаний энрофлоксацина

из анализируемых сред (например, промывных вод после очистки производственного оборудования) предложена дисперсионная микроэкстракция в каплю экстрагента с последующей кристаллизацией экстракта. Метод предполагает диспергирование экстрагента в водной фазе в присутствии полярного органического растворителя, который смешивается с водной и органической фазами.

В качестве экстрагента для извлечения энрофлоксацина был выбран 1-додеканол [20], который имеет ограниченную растворимость в водной фазе (0,004 г/л [21]), низкую летучесть и температуру кристаллизации, близкую к комнатной (температура плавления 24°C [22]). Перечисленные свойства длинноцепочечного спирта позволили его применять в дисперсионной жидкостной микроэкстракции с кристаллизацией экстракта.

Для исключения применения полярных растворителей в процессе диспергирования экстрагента в водной фазе был реализован подход, предполагающий переход твердой фазы 1-додеканола в жидкую и ее диспергирование в водной фазе при вращении хлопкового

диска при нагревании. Также в этом случае при перемешивании и одновременном нагревании системы растворителей и аналита наблюдается образование и диспергирование органической фазы. Диск с вкладышем магнитной мешалки служит как переносчик экстрагента и как магнитный якорь, способный образовать центральный вихрь для формирования капли. Далее раствор пробы охлаждают до температуры -5°C, в результате чего капля экстракта кристаллизуется. После чего твердофазный экстракт отбирают и растворяют в метаноле для последующего хроматографического анализа.

В составе анализируемого лекарственного препарата, наряду с действующими веществами – энрофлоксацином и колистина сульфатом, имеются еще молочная кислота, бензиловый спирт, метабисульфит натрия и вода очищенная. В ходе исследований было обнаружено, что, помимо энрофлоксацина, из пробы лекарственного препарата еще выделяются колистина сульфат и бензиловый спирт (рис. 2). Основные характеристики аналитических определений были оценены

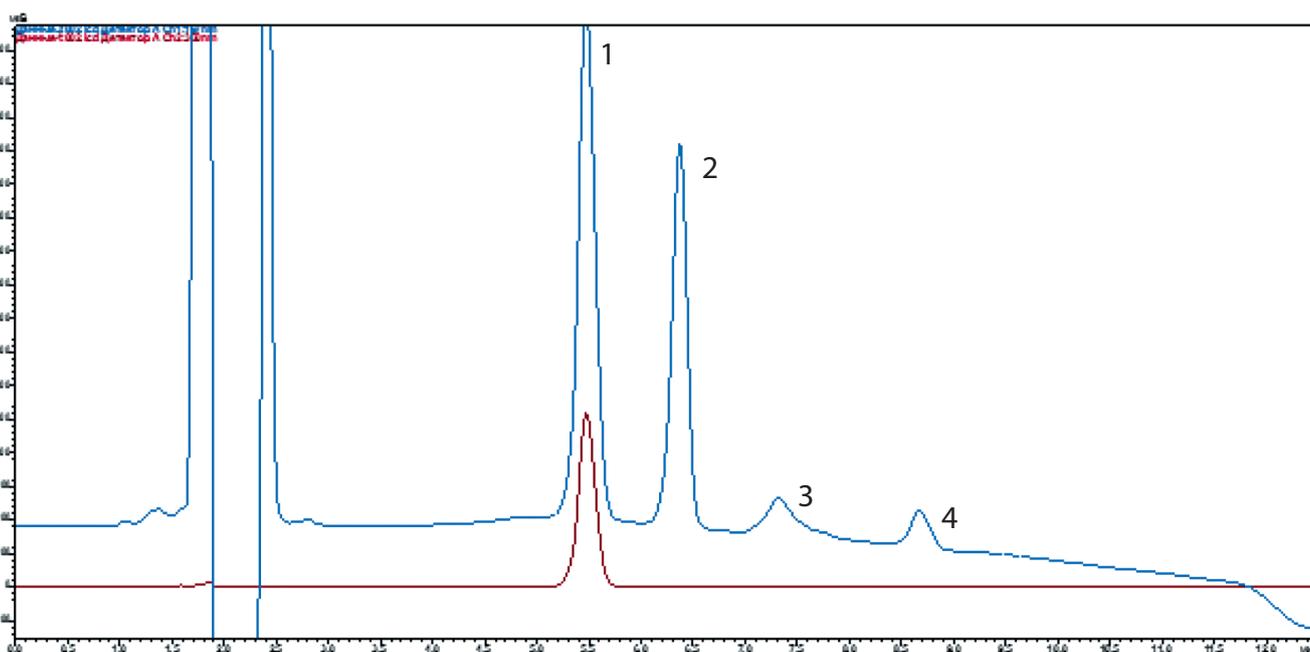


РИС. 2. Хроматограмма смеси после микроэкстракционного выделения: энрофлоксацин (1), бензиловый спирт (2), колистина сульфат E2 (3) и колистина сульфат E1 (4)

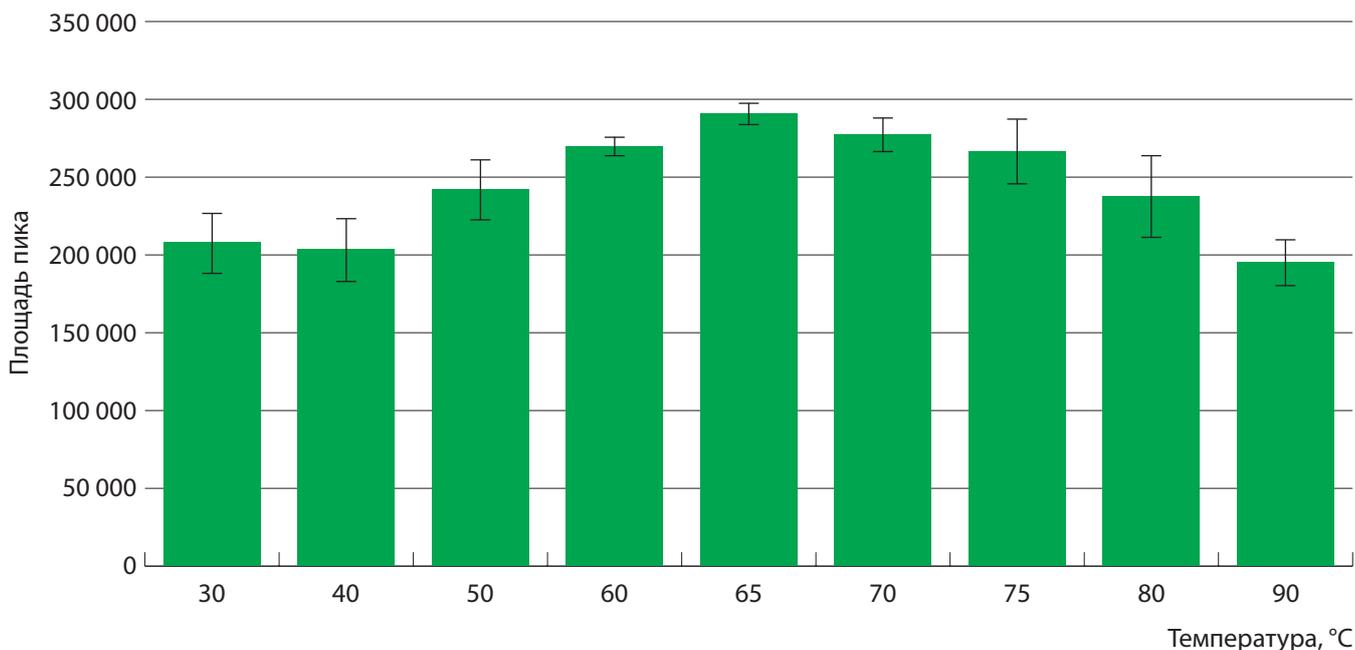


РИС. 3. Влияние температуры на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

по энрофлоксацину, так как его содержание в испытуемых пробах наибольшее. Однако разработанный подход микроэкстракционного выделения позволяет идентифицировать бензиловый спирт и колистина сульфат в испытуемых пробах.

Влияние температуры на процесс экстракции. На начальном этапе на хлопковый диск

помещали 80 мкл расплавленного 1-додеканола, замораживали его и в дальнейшем использовали для процедуры микроэкстракции. Для подбора наиболее оптимальной температуры провели ряд исследований с температурой от 30 до 90°C. Для проверки актуальной температуры рядом с испытуемым образцом устанавливали флакон с аналогичным

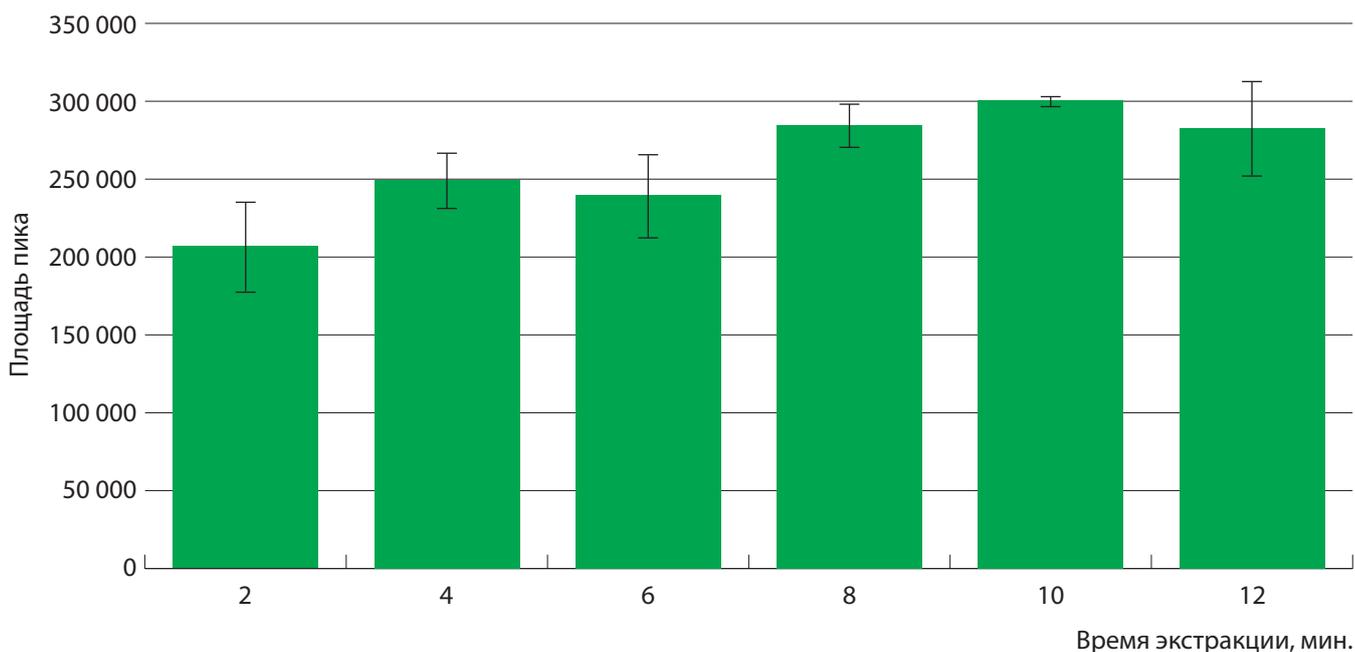


РИС. 4. Влияние времени на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

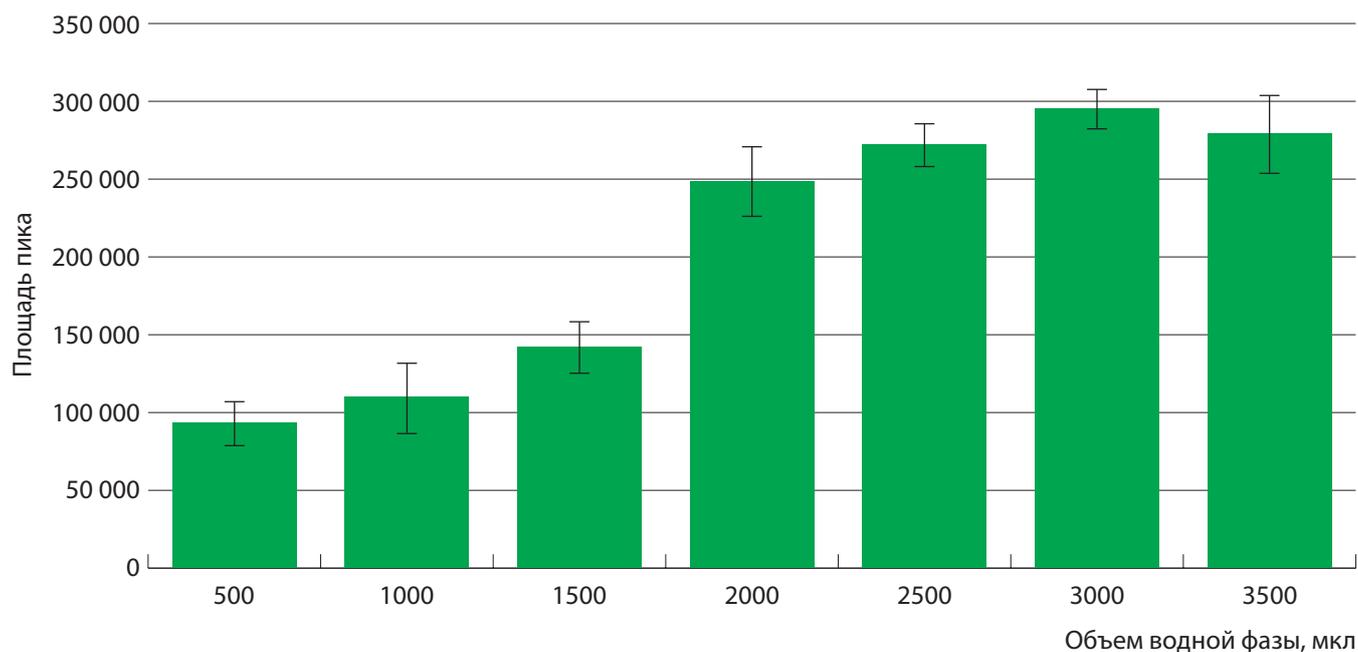


РИС. 5. Влияние объема раствора пробы на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

объемом жидкости и с помощью погружного термометра измеряли температуру нагрева.

При температуре нагрева 30 и 40°C наблюдалось недостаточное извлечение экстрагента из хлопкового диска, что давало невоспроизводимые результаты. При температуре выше 70°C наблюдалось кипение капли экстрагента, что, в свою очередь, способствовало частичному улетучиванию экстрагента и растеканию по стенкам флакона. По истечении времени экстрагирования капля не собиралась и замерзала кусочками. Оценка влияния температуры на процесс экстракции была оценена по площадям пика энрофлоксацина (рис. 3).

Влияние времени на процесс экстракции. В ходе исследований было рассмотрено влияние времени на процесс экстракции. Так как для полного извлечения 1-додеканола из хлопкового диска необходимо достаточное количество времени, изучали данное влияние от 2 до 12 мин. (рис. 4). Зависимость рассчитывали исходя из полученных площадей пиков. Установлено, что при времени 10 мин. наблюдается наименьшее относительное среднее квадратичное отклонение (ОСКО) при высокой

степени извлечения. При 12 минутах наблюдалось увеличение ОСКО, что, скорее всего, связано с потерей органического растворителя путем испарения.

Влияние объема раствора пробы на процесс экстракции. Изучено влияние объема раствора пробы в диапазоне от 1 мл до 3 мл на эффективность микроэкстракции.

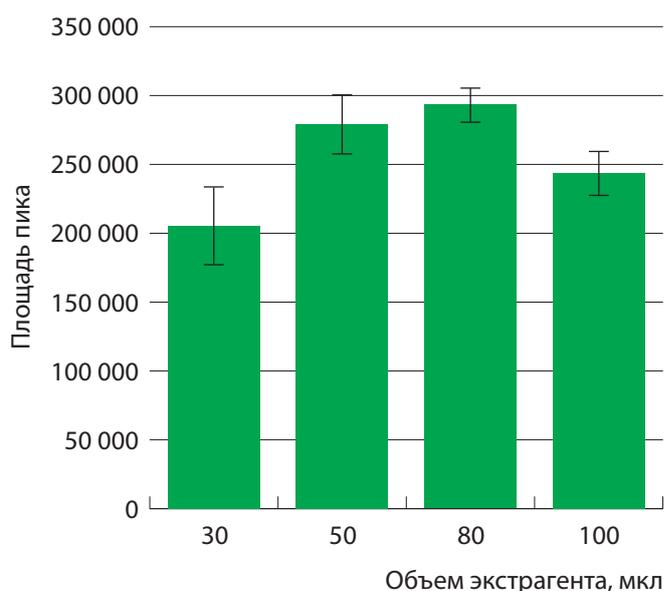


РИС. 6. Влияние объема экстрагента на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

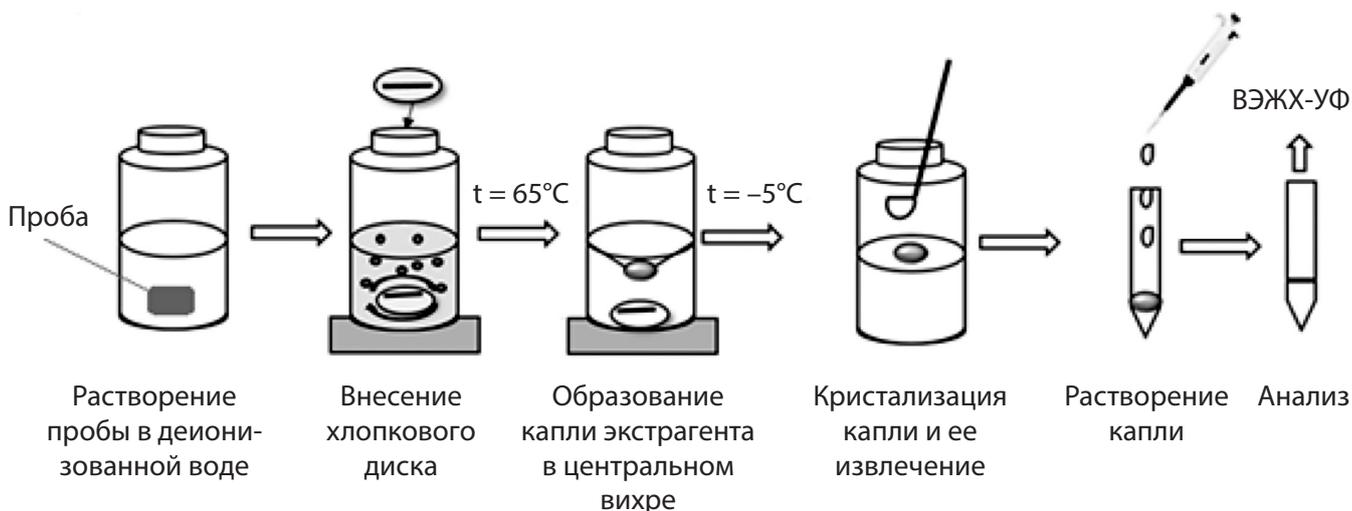


РИС. 7. Схема проведения дисперсионной жидкостной микроэкстракции с последующей кристаллизацией экстракта

При увеличении объема раствора пробы до 3 мл аналитический сигнал возрастал (рис. 5). Также при экстракции из больших объемов пробы наблюдались невоспроизводимые результаты, которые можно объяснить процессом неравномерного диспергирования 1-додеканола в большом объеме водной фазы. Таким образом, для дальнейших исследований был выбран объем пробы 3 мл.

Влияние объема экстрагента на процесс экстракции. Объем экстрагента оказывает значительное влияние на степень извлечения аналита. В ходе оптимизации этого параметра была проведена процедура микроэкстракции с объемами 1-додеканола от 30 до 100 мкл, которые предварительно наносили на хлопковый диск. Было установлено, что объем экстрагента 80 мкл обеспечивал самые высокие

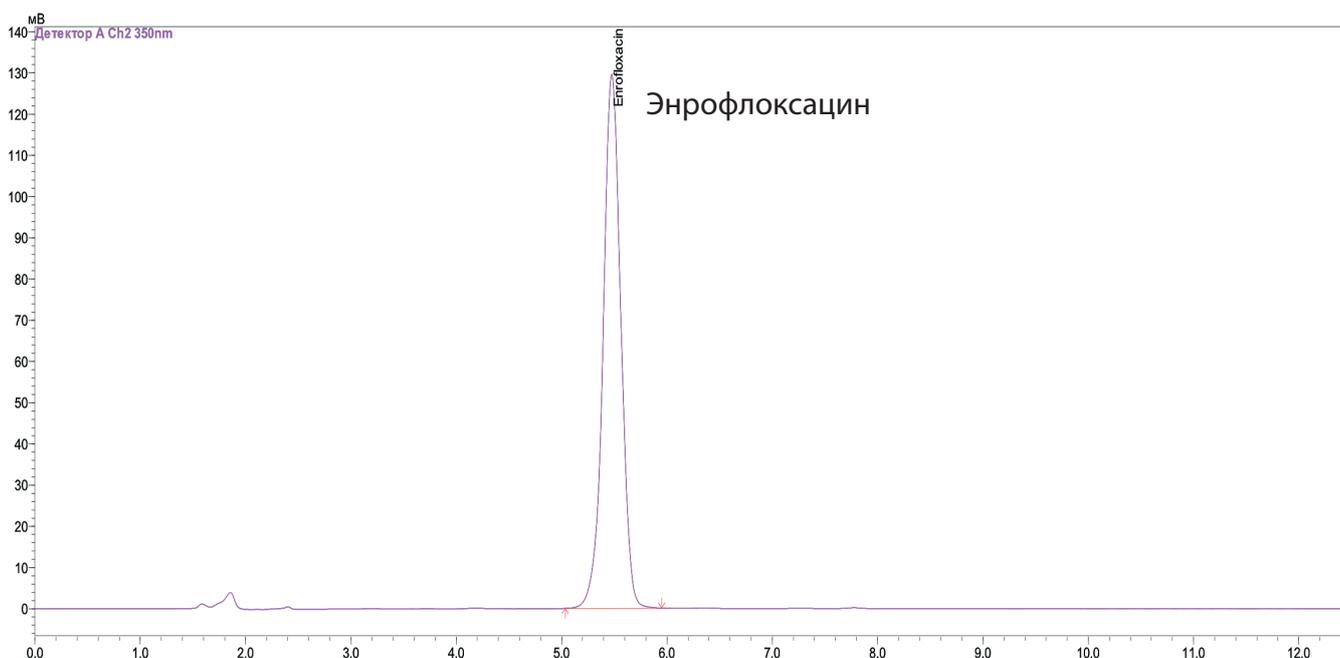


РИС. 8. Хроматограмма энрофлоксацина после микроэкстракционного выделения при длине волны 350 нм

Таблица 2

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЭНРОФЛОКСАЦИНА В ВОДНЫХ ПРОБАХ
(N=3, P=0,95)**

Проба	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Степень извлечения, %
1	853	847,49±32,23	99,32
2	863	854,56±26,17	98,98
3	830	834,47±7,22	100,53
Среднее			99,61
SD, %			0,81
RSD, %			0,82

значения площадей хроматографических пиков (рис. 6) при сравнительно низком ОСКО.

На основе полученных результатов был разработан следующий способ определения энрофлоксацина в водных пробах (рис. 7): 0,05±0,005 г пробы помещали в стеклянный флакон, добавляли до 3 мл воды очищенной и интенсивно встряхивали смесь в течение 2 мин. Хлопковый диск с 1-додеканолом (80 мкл) помещали во флакон с раствором пробы и перемешивали со скоростью 650 об/мин в течение 10 мин. при температуре 65°C. Плотность экстракта меньше плотности водной фазы, поэтому органическая фаза выделялась в форме капли в центральном вихре в водной фазе. Для кристаллизации экстракта стеклянный флакон помещали в ледяную воду (-5°C,

5 мин.). После этого твердую фазу экстракта (в форме капли) аккуратно переносили в другой сосуд с помощью шпателя, растворяли в 100 мкл метанола при комнатной температуре и вводили приготовленный раствор в хроматографическую систему. Пример хроматограммы энрофлоксацина после микроэкстракционного выделения представлен на рис. 8.

Для построения градуировочного графика использовали растворы энрофлоксацина заранее известной концентрации. Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций от 32,0 до 996 мкг/мл и описывается уравнением регрессии ($S=372C$) ($R^2=0,9992$). Предел обнаружения, оцененный по 3σ критерию Кайзера, составил 0,99 мкг/мл. ОСКО не превышало 10% (n=5). Среднее значение степени извлечения составило 96%.

Правильность результатов оценивали методом «введено – найдено». Найденные результаты определения содержания энрофлоксацина в водных растворах представлены в табл. 2. Правильность результатов также подтверждена референтным методом [23] при определении энрофлоксацина в лекарственных препаратах в виде растворов для орального применения. Полученные результаты приведены в табл. 3.

ВЫВОДЫ

1. Разработан эффективный вариант дисперсионной жидкостной микроэкстракции,

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНРОФЛОКСАЦИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Проба	Действующее вещество	Единица измерения	Найдено	
			ВЭЖХ-УФ	УФ-спектрофотометрия
Энроколистин ВС	Энрофлоксацин	мг/мл	99,59±0,81	99,81±0,94
Энроксил	Энрофлоксацин	мг/мл	99,48±0,91	99,94±0,96

предполагающий диспергирование экстрагента в водном растворе пробы при вращении хлопкового диска, оснащенного вкладышем магнитной мешалки, с последующей кристаллизацией экстракта. Для микроэкстракционного выделения энрофлоксацина показана возможность применения 1-додеканола в качестве экстрагента.

2. Предложенный способ ВЭЖХ-УФ определения энрофлоксацина в водных пробах по сравнению с аналогичными способами позволяет упростить процедуру пробоподготовки, сократить расход экстрагентов (на одно определение требуется 80 мкл экстрагента), не требует центрифугирования. Разработанный способ микроэкстракции может в дальнейшем найти применение в определении степени чистоты оборудования после фармацевтического производства.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Boothe D.M. *Enrofloxacin revisited* // *Veterinary medicine*. – 1994. – P. 744–753.
2. Sarmah A.K., Meyer M.T., Boxall A.B. A. *A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment* // *Chemosphere*. – 2006. – V. 65. – №5. – P. 725–759.
3. Golovnev N.N., Vasiliev A.D., Kirik S.D. *Enrofloxacinium citrate monohydrate: Preparation, crystal structure, thermal stability and IR-characterization* // *Journal of Molecular Structure*. – 2012. – V. 1021. – P. 112–117.
4. Regitano J.B., Leal R.M. P. *Performance and environmental impact of antibiotics in animal production in Brazil* // *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. – 2010. – V. 34. – №3. – P. 601–616.
5. Li J., Milne R.W., Nation R.L. et al. *Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography* // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2003. – V. 47. – №4. – P. 1364–1370.
6. Jansson B., Karvanen M., Cars O. et al. *Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS* // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2009. – V. 49. – №3. – P. 760–767.
7. Ma Z., Wang J., Nation R.L. et al. *Renal disposition of colistin in the isolated perfused rat kidney* // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2009. – V. 53. – №7. – P. 2857–2864.
8. Yapa S.W. S., Li J., Porter C.J. et al. *Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate in rats: achieving sustained lung concentrations of colistin for targeting respiratory infections* // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2013. – V. 57. – №10. – P. 5087–5095.
9. Idowu O.R., Peggins J.O. *Simple, rapid determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in bovine milk and plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection* // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2004. – V. 35. – №1. – P. 143–153.
10. Cinquina A.L., Roberti P., Giannetti L. et al. *Determination of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goat milk by high-performance liquid chromatography with diode-array detection: Optimization and validation* // *Journal of Chromatography A*. – 2003. – V. 987. – №1–2. – P. 221–226.
11. Krebber R., Hoffend F.J., Ruttman F. *Simple and rapid determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in edible tissues by turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry (TFC-MS/MS)* // *Analytica Chimica Acta*. – 2009. – V. 637. – №1–2. – P. 208–213.
12. Wei R., Ge F., Chen M. et al. *Occurrence of ciprofloxacin, enrofloxacin, and florfenicol in animal wastewater and water resources* // *Journal of Environmental Quality*. – 2012. – V. 41. – №5. – P. 1481–1486.
13. Ašperger D., Mutavdžić D., Babić S. et al. *Solid-phase extraction and TLC quantification*

- of enrofloxacin, oxytetracycline, and trimethoprim in wastewater // *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. – 2006. – V. 19. – № 108. – P. 129–134.
14. Zuloaga O., Olivares M., Navarro P. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction: Trends in the analysis of biological samples // *Bioanalysis*. – 2015. – V. 7. – №17. – P. 2211–2225.
15. Jafarinejad M., Ezoddin M., Lamei N. et al. Effervescent tablet-assisted demulsified dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet for determination of methadone in water and biological samples prior to GC-flame ionization and GC-MS // *Journal of Separation Science*. – 2020. – V. 43. – №16. – P. 3266–3274.
16. Wang X., Wang Y., Zou X. et al. Improved dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplet method with a binary mixed solvent applied for determination of nicotine and cotinine in urine // *Analytical Methods*. – 2014. – V. 6. – №7. – P. 2384–2389.
17. Farahmand F., Ghasemzadeh B., Naseri A. Air-assisted liquid – liquid microextraction using floating organic droplet solidification for simultaneous extraction and spectrophotometric determination of some drugs in biological samples through chemometrics methods // *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2018. – V. 188. – P. 72–79.
18. Pelit F.O., Yengin Ç. Application of solidified floating organic drop microextraction method for biomonitoring of chlorpyrifos and its oxon metabolite in urine samples // *Journal of Chromatography B*. – 2014. – V. 949. – P. 109–114.
19. Regueiro J., Llompарт M., Garcia-Jares C. et al. Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of emergent contaminants and pesticides in environmental waters // *Journal of Chromatography A*. – 2008. – V. 1190. – №1–2. – P. 27–38.
20. Shishov A., Chromá R., Vakh C. et al. In situ decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction // *Analytica Chimica Acta*. – 2019. – V. 1065. – P. 49–55.
21. Pérez A.D., Rodríguez-Barona S., Fontalvo J. Molecular toxicity of potential liquid membranes for lactic acid removal from fermentation broths using *Lactobacillus casei* ATCC 393 // *Dyna*. – 2018. – V. 85. – №207. – P. 360–366.
22. Maryadele J. O'Neil. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological*. – Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, – 2013. – P. 621.
23. Mostafa S., El-Sadek M., Alla E.A. Spectrophotometric determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and pefloxacin through charge transfer complex formation // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2002. – V. 27. – №1–2. – P. 133–142.

MICROEXTRACTION ISOLATION OF ENROFLOXACIN FOR SUBSEQUENT DETERMINATION IN DRUGS BY HPLC METHOD

Z.R. Yakupova¹, S.Yu. Garmonov¹, K.S. Vakh², A.V. Bulatov²

¹ Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

² Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

A method for chromatographic determination of enrofloxacin in medicinal preparations and flushes from technological equipment has been developed, including microextraction of the active substance from the sample solution by in situ generation of the extractant phase and its dispersion as a result of rotation

of the cotton disk. With stirring and simultaneous heating of the solvent and analyte system, the formation of a central funnel is observed, where a drop of organic extract is formed during the subsequent destruction of the emulsion. Cooling of the extraction system contributes to the crystallization of the extract, which is selected for subsequent HPLC-UV determination. The calibration curve is linear in the concentration range from 32 to 996 mkg/ml ($y=372,22C$). The detection limit (3σ) of 0.996 mkg/ml is reached. The RSD did not exceed 10% ($n=5$). The average value of the extraction degree was 96%. The analytical capabilities of the developed method have been tested on the analysis of drugs.

Keywords: microextraction, high-performance liquid chromatography, enrofloxacin, drugs

УДК 615.2:616-001.4

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.35.21.002>

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПОЛИКОМПОНЕНТНОГО ГЕЛЯ РЕПАРАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Е.Б. Никифорова, канд. фарм. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, elenanik94@mail.ru

К.И. Мелконян, канд. мед. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, Kimelkonian@gmail.ru

Д.В. Веселова, канд. фарм. наук, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, d_veselova@mail.ru

А.Г. Нечаева, ординатор кафедры фармации, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, anna.ovsyunikova@gmail.com

Я.А. Козмай, младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, yana.yutskevich@gmail.com

Т.В. Русинова, научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, rusinova.tv@mail.ru

Разработка лекарственных препаратов для лечения ран представляет собой актуальную теоретическую и прикладную задачу, в связи с чем обоснованна целесообразность разработки состава и технологии поликомпонентного репаративного действия на основе биополимеров дермы и комплекса биологически активных веществ кукурузы столбиков с рыльцами. Проведенные исследования позволили предложить оптимальный состав и технологию получения поликомпонентного геля. Целью настоящего исследования являлось определение критериев и методик контроля показателей качества поликомпонентного геля репаративного действия. В качестве критериев качества поликомпонентного геля изучены показатели «описание», рН, «микробиологическая чистота», «подлинность» и «количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид».

Ключевые слова: поликомпонентный гель, репаративное действие, оценка качества, сумма флавоноидов, дифференциальная спектрофотометрия

Отечественный фармацевтический рынок по-прежнему испытывает недостаток в лекарственных препаратах репаративного действия, что определяет исследования по их созданию как актуальную теоретическую и прикладную задачу. В этой связи обоснованна целесообразность разработки состава и технологии поликомпонентного геля с прогнозируемым положительным влиянием на процессы заживления ран на основе биополимеров дермы и комплекса биологически активных веществ (БАВ) кукурузы столбиков с рыльцами (КСР). Комплекс проведенных технологических исследований позволил предложить оптимальный состав и технологию получения

поликомпонентного геля [1]. На следующем необходимом этапе фармацевтической разработки предстояло решить вопросы оценки качества предложенного состава поликомпонентного геля.

Цель настоящего исследования – определение критериев и методик контроля показателей качества поликомпонентного геля репаративного действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись экспериментальные образцы поликомпонентного геля. Образцы получали посредством введения густого экстракта КСР в коллагеновую основу, приготовленную путем щелочного гидролиза биополимеров свиной дермы [1].

Оценку качества поликомпонентного геля проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0008.15 «Мази» Государственной фармакопеи IV издания по следующим критериям: «описание», pH, «микробиологическая чистота», «подлинность» и «количественное содержание действующих веществ» [2]. Показатель «описание» оценивали органолептически. Определение pH геля проводили потенциометрически с помощью pH-метра (Mettler Toledo, США) согласно ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия» непосредственно в пробе геля. Микробиологическую чистоту геля изучали чашечным агаровым методом в соответствии с ОФС.1.2.4.0002.15. При выборе метода контроля подлинности и количественного определения действующих веществ руководствовались принципом сквозной стандартизации, согласно которому установление содержания одной и той же группы БАВ в исходном сырье и получаемых из него препаратах должно проводиться с использованием одного и того же метода [3]. Согласно требованиям ФС.2.5.0079.18, лекарственное растительное сырье КСР

контролируют по количественному содержанию суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид. В этой связи оценку качества поликомпонентного геля по показателям подлинности и количественного содержания действующих веществ проводили аналогичным образом. Присутствие и количественное определение флавоноидов КСР в разработанном геле устанавливали спектрофотометрически на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония).

В работе использовались следующие реактивы: кислота хлористоводородная (х.ч., ООО «Сигматек»), кислота уксусная (99–100%, CAS 64-19-7, Sigma), алюминия хлорид (99,99%, CAS 7446-70-0, Sigma), спирт этиловый 95% (ФС.2.1.0036.15), вода очищенная (ФС.2.2.0020.18); стандартный образец (СО) лютеолин-7-гликозида (CAS 5373-11-5).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением стандартных компьютерных программ Microsoft Excel в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV изд. (ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента»).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью установления показателей и норм качества в лабораторных условиях было получено пять серий поликомпонентного геля.

По показателю «описание» гель представлял собой однородную массу светло-коричневого цвета с приятным фруктовым запахом, не содержащую посторонних примесей.

Результаты определения pH поликомпонентного геля позволили установить, что водородный показатель экспериментальных образцов составил $7,6 \pm 0,15$. Выявленное значение pH изучаемого геля, по данным научной литературы, согласуется с существующими представлениями об оптимальности

нейтральных или слабощелочных величин водородного показателя для достижения максимальной активности щелочной фосфатазы и коллагеназы во второй фазе раневого процесса – фазе заживления раны [4].

Изучение микробиологической чистоты поликомпонентного геля показало, что общее суммарное число аэробных бактерий и грибов не превышало 10^2 КОЕ в 1 г свежеприготовленных экспериментальных образцов при отсутствии *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, что соответствовало требованиям, предъявляемым к препаратам категории 2.

С целью проведения спектрофотометрических исследований поликомпонентного геля осуществляли сравнительную оценку дифференциальных спектров поглощения СО лютеолин-7-гликозида и спиртового извлечения из поликомпонентного геля, который выявил совпадение их спектральных характеристик, а именно – расположения максимумов поглощения в области длины волны 400 ± 2 нм. При этом следует отметить, что изучение спектральных характеристик основы поликомпонентного геля показало отсутствие у нее оптического поглощения в аналогичных условиях испытания (рис. 1).

С целью количественного определения содержания суммы флавоноидов 1,0 г (точная навеска) поликомпонентного геля помещали в колбу объемом 50 мл, трехкратно интенсивно взбалтывая содержимое колбы, обрабатывали равными порциями 60% этилового спирта. Все полученные извлечения объединяли, фильтровали с помощью бумажного складчатого фильтра в мерную колбу вместимостью 50 мл, затем доводили 60% этиловым спиртом до метки и использовали для проведения спектрофотометрических исследований.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на лютеолин-7-гликозид в поликомпонентном геле (в %) вычисляли по формуле:

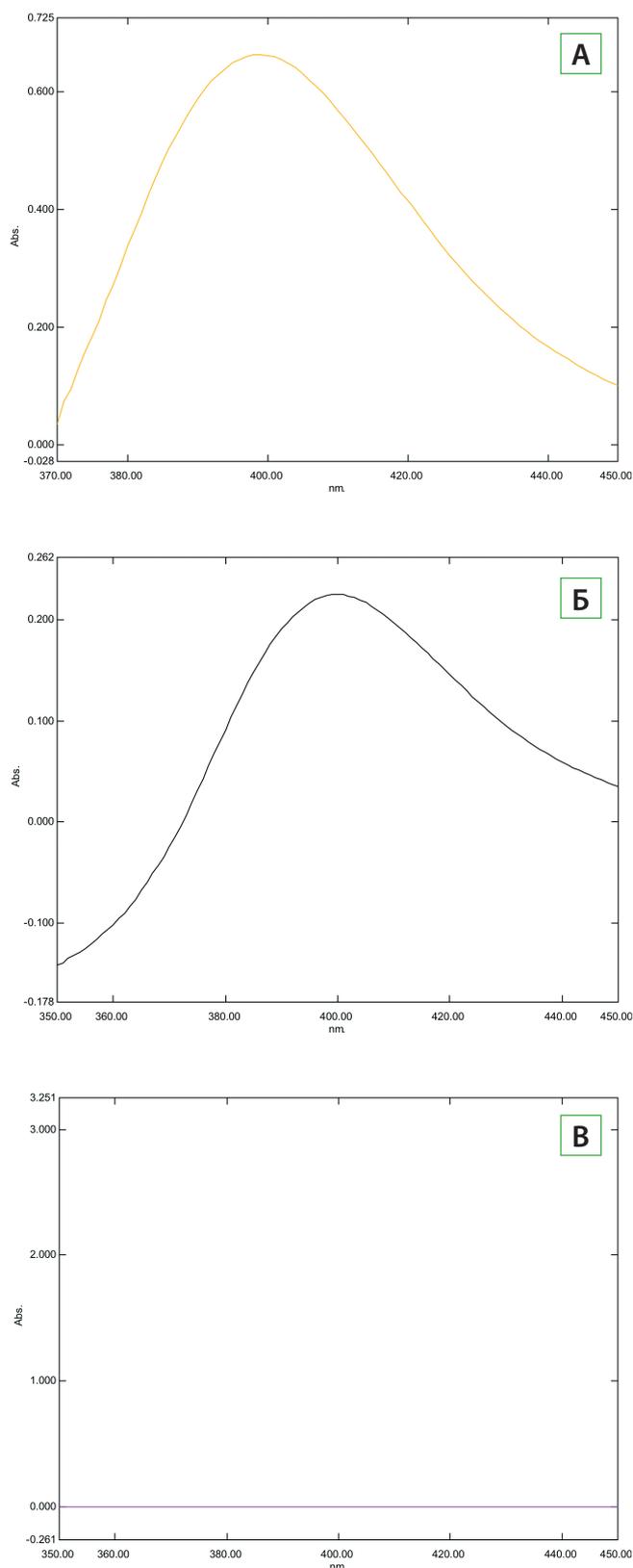


РИСУНОК 1. Дифференциальные спектры поглощения комплекса с алюминия хлоридом в кислой среде (А – СО лютеолин-7-гликозида с; Б – спиртового извлечения из поликомпонентного геля; В – основы поликомпонентного геля)

Таблица 1

**РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ
ПОЛИКОМПОНЕНТНОГО ГЕЛЯ**

№ образца	Содержание суммы флавоноидов, %	Метрологические характеристики
1	0,033	$\bar{X} = 0,0332$
2	0,032	$S = 0,00084$
3	0,034	$S_x = 0,00038$
4	0,034	$\Delta x = 0,00047$
5	0,033	$\varepsilon = 1,42\%$
		$P = 95\%$
		$t(P,f) = 2,78$

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot a_0 \cdot 2}{A_0 \cdot a \cdot 1 \cdot 100 \cdot 50} = \frac{A \cdot a_0}{A_0 \cdot a \cdot 2}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; A₀ – оптическая плотность раствора стандартного образца лютеолин-7-гликозида; a – навеска поликомпонентного геля, г; a₀ – масса стандартного образца лютеолин-7-гликозида, г.

Результаты количественного определения суммы флавоноидов поликомпонентного геля представлены в табл. 1.

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что ошибка спектрофотометрического определения количественного содержания суммы флавоноидов в составе поликомпонентного геля с доверительной вероятностью 95% составила ±1,42%.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в результате проведенных исследований изучены и предложены критерии качества поликомпонентного геля репаративного действия. По показателю «описание» поликомпонентный гель представляет собой однородную массу светло-коричневого цвета с приятным фруктовым запахом без посторонних примесей. Установлено,

что поликомпонентный гель характеризуется слабощелочным значением pH (7,6±0,15), что создает оптимальные условия для протекания фазы заживления раневого процесса. Показано, что использование метода дифференциальной спектрофотометрии позволяет статистически значимо проводить качественную и количественную оценку содержания флавоноидов в составе поликомпонентного геля.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта №Н-21.1/28.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Фармацевтические исследования по разработке геля репаративного действия с густым экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами / Е.Б. Никифорова, Д.В. Веселова, А.Г. Нечаева и др. // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: Сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции, Воронеж, 31 марта – 2 апреля 2022 года / Под общей редакцией*

- А.С. Беленовой, А.А. Гудковой. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2022. – С. 383–388.
2. Государственная фармакопея РФ XIV издания [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://femb.ru>.
 3. Марахова А.И. Применение принципа сквозной стандартизации в анализе флавоноидов травы пустырника и препаратов на его основе / А.И. Марахова, А.А. Сорокина, Я.М. Станишевский // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 1(14). – С. 150–154.
 4. Морозов А.М., Армасов А.Р., Сергеев А.Н., Жуков С.В. Соболев Е.А., Муравлянцева М.М., Беляк М.А. Влияние рН на динамику течения раневого процесса в послеоперационном периоде / А.М. Морозов, А.Р. Армасов, А.Н. Сергеев и др. // Вестник медицинского института «Реавиз». Реабилитация. Врач и здоровье. 2021. – № 2(50). – С. 87–91. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2021.2.CLIN.9>

TOPICAL QUESTIONS OF QUALITY ASSESSMENT OF A POLYCOMPONENT REPARATIVE GEL

E.B. Nikiforova, K.I. Melkonyan, D.V. Veselova, A.G. Nechaeva, Ya.A. Kozmay, T.V. Rusinova
Kuban State Medical University, Ministry of Health of the Russia, Krasnodar, Russia

The development of drugs for the treatment of wounds is an urgent theoretical and applied problem, in connection with which the expediency of developing the composition and technology of a multicomponent reparative action based on dermal biopolymers and a complex of biologically active substances of corn silk is substantiated. The studies carried out made it possible to propose the optimal composition and technology for obtaining a polycomponent gel. The purpose of this study was to determine the criteria and methods for monitoring the quality indicators of a multicomponent reparative gel. As criteria for the quality of a multicomponent gel, the indicators "description", pH, "microbiological purity", "authenticity" and "quantitative content of the sum of flavonoids in terms of luteolin-7-glycoside" were studied.

Keywords: polycomponent gel, reparative effect, quality assessment, sum of flavonoids, differential spectrophotometry

УДК: 615.07.242.454

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.86.92.003>

ОБЩИЕ ПОДХОДЫ К ВАЛИДАЦИИ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ ДЛЯ РЕМИНЕРАЛИЗАЦИИ ЭМАЛИ

А.Л. Голованенко, доктор фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, annagolovanenko@yandex.ru

Е.С. Березина, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, berezina@pfa.ru

И.В. Алексеева, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической технологии, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, alekseeva@pfa.ru

В ходе подготовки нормативной документации на пленки и гели для профилактики и лечения кариеса эмали модифицированы, апробированы и валидированы методики подтверждения подлинности и количественного определения основных действующих веществ: кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного, натрия фторида. Использовались как химические, так и физико-химические методы, модифицированные с учетом специфики лекарственных форм. В статье представлены результаты валидации методик испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ в реминерализующих пленках и гелях. В результате проведенных исследований установлено, что валидированные методики испытания на подлинность и количественного определения могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию на разработанные пленки и гели.

Ключевые слова: валидация, кариес эмали, пленки, гели, подлинность, количественное определение, специфичность, линейность, правильность, повторяемость

На кафедре фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии проведены комплексные экспериментальные исследования, в результате которых разработаны гели и пленки, оказывающие реминерализующий эффект. В лекарственные формы (ЛФ) одновременно введены минерализующие неорганические соли, содержащие легко высвобождаемые ионы, которые в эмали восполняют дефекты кристаллической решетки, повышают резистентность к действию кислот и снижают проницаемость. Сохранение данных минерализующих ионов в свободном активном состоянии значительно увеличивает проникновение в эмаль и предотвращает быстрое их выведение из полости рта. Согласно основным требованиям к реминерализующим средствам, при разработке составов ЛФ учитывалось соотношение ионов кальция и фосфатов 1:4 [1]. Расширение числа разработок по созданию новых эффективных, качественных и безопасных лекарственных препаратов (ЛП) приводит к отказу от устаревших методик контроля качества и необходимости применения более совершенных аналитических

методик. На разработанные пленки и гели при подготовке нормативной документации (НД) проведена валидационная оценка методик, предложенных для подтверждения показателей «подлинность» и «количественное определение» основных действующих веществ (ДВ): кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного, натрия фторида. Использовались химические и физико-химические методы, модифицированные с учетом особенностей ЛФ [2,3]. Валидация аналитических методик проводилась в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [4].

Цель настоящего исследования – валидация методик испытания на подлинность и количественного определения ДВ в пленках и гелях для профилактики и лечения кариеса эмали.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами являлись пять серийных образцов пленок и гелей.

Для исследований использованы активные фармацевтические субстанции (АФС) фармакопейного качества: кальция хлорид гексагидрат (ФС.2.2.0024.18, «Агрохим», ОАО «Химзавод им. Л.Я. Карпова», г. Менделеевск, Татарстан, 200919, срок хранения 3 года), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79, ЗАО «Ленреактив», Россия, 101019, срок хранения 3 года), натрия фторид (ФС.2.2.0013.15, «Реахим», Россия, 201119, срок хранения 3 года); вспомогательные вещества (ВВ), разрешенные к применению и отвечающие требованиям действующей нормативной документации: натрий карбоксиметилцеллюлоза (ТУ 2231-034-07507908-01, ЗАО «Вектон», СПб, Россия, 151219, срок хранения 3 года); глицерол (ФС.2.2.0006.15, ЗАО «Купавнареактив», Россия, 082019, срок хранения 3 года); вода очищенная (ФС 2.2.0020.18), ксилит (ГОСТ

P53904-2010, ООО «Виннер», Россия, 101219, срок хранения 3 года), мяты перечной масло эфирное (ТУ 9151-001-99535663-07, «Аспера», Россия, 231019, срок хранения 3 года).

Для взятия навесок АФС использовали аналитические весы (HR-150AG, AND, Корея).

Гомогенизацию поливочного раствора для пленок и составов гелей осуществляли погружной верхнеприводной лабораторной мешалкой RW 11 basic Labeqq. Гели изготовлены методом гомогенизации. Пленки получали методом полива с последующим высушиванием в сушильном шкафу (EU-53, №39612546, Jouan, Франция).

Для оценки специфичности методик испытания на подлинность использовали модельные смеси известного состава: полный состав пленок и гелей, смеси с чередованием ДВ, пленки и гели плацебо. Предварительно для качественных реакций проведена пробоподготовка. Для подтверждения подлинности ДВ использовались фармакопейные, а также нефармакопейные реакции на соответствующие катионы и анионы [2,4,6,9,10].

Для определения количественного содержания кальция хлорида использовали комплексометрический метод. Предложен способ обратного титрования с соблюдением определенной последовательности добавления реактивов для предотвращения образования осадка кальция фосфата.

Количественное содержание калия фосфата двузамещенного определяли фотоэлектродиметрическим методом (фотометр КФК-3, ЗОМЗ, Россия) с использованием реакции образования окрашенного комплекса фосфат-молибдат аммония с расчетом по рабочему стандартному образцу.

Для определения количественного содержания натрия фторида модифицирован фотоэлектродиметрический метод, предложено использовать реакцию с цирконил-ализариновым комплексом с расчетом по рабочему стандартному образцу [7–10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для валидации аналитических методик использовали пять серийных образцов пленок и гелей. Валидация аналитических методик проводилась в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [4].

При оценке *специфичности методик реакций испытания на подлинность* установлено, что предложенные методики характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на плацебо и модельных смесях, свободных от определяемых ДВ, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент.

Валидация методик количественного определения ДВ в пленках

Специфичность. Исследования методик количественного определения ДВ проводились на модельных смесях различного состава с чередованием ДВ. При исследовании проводили по три параллели определений. Получены следующие данные: доверительные интервалы $3,891 \times 10^{-3} \pm 8,9 \times 10^{-5}$ г для кальция хлорида, $6,596 \times 10^{-3} \pm 2,62 \times 10^{-4}$ г для калия фосфат двузамещенного, $1,01 \times 10^{-4} \pm 0,2 \times 10^{-5}$ г для натрия фторида. Полученные результаты свидетельствуют о соответствии критериям приемлемости.

Линейность. Требования к параметрам *линейной зависимости* выполнялись в диапазоне концентраций от 70% до 130% от заявленного количества ДВ. Полученные результаты обработаны в виде графика зависимости расхода титранта – для комплексонометрического метода и оптической плотности – для фотоэлектроколориметрического метода от количества определяемых ДВ. Коэффициенты корреляции регрессионных графиков для всех определяемых ДВ составили 0,999. Диапазон концентраций от 70% до 130% от заявленного количества

ДВ можно определить как аналитическую область разработанных методик. Параметры линейной зависимости соответствуют требованиям ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [4].

Правильность. Правильность методик оценивалась по результатам анализа модельных смесей. Использовали три параллели определений для семи аналитических концентраций в интервале от 70% до 130% от заявленного состава. Отношение «найденно – введено» (Z_i) находится в интервале от 98% до 103%. Отклонение \bar{Z} от 100% не превышает доверительный интервал. Систематическая погрешность статистически неотличима от нуля. Полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительной *правильности* методик. Результаты количественного определения ДВ в пленках для лечения кариеса эмали представлены в табл. 1. Содержание ДВ приведено на среднюю терапевтическую дозу массой 0,05 г.

Доверительные интервалы составили: $4,07 \times 10^{-3} \pm 0,14 \times 10^{-4}$ г для кальция хлорида, $6,80 \times 10^{-3} \pm 1,9 \times 10^{-4}$ г для калия фосфат двузамещенного и $1,01 \times 10^{-3} \pm 0,2 \times 10^{-5}$ г для натрия фторида. По величинам стандартного отклонения и доверительному интервалу можно сделать заключение об удовлетворительной *прецизионности (повторяемости)* предложенных методик под влиянием внутрिलाбораторных вариаций.

Валидация методик количественного определения ДВ в гелях

Специфичность. Исследования методик количественного определения ДВ проводились на модельных смесях различного состава с чередованием ДВ. Исследования проведены в трех параллелях определений. Получены следующие доверительные интервалы: $7,659 \pm 1,2 \times 10^{-2}$ г для кальция хлорида, $13,262 \pm 0,158$ г для калия фосфата двузамещенного, $0,199 \pm 0,2 \times 10^{-2}$ г для натрия фторида.

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДВ В ПЛЕНКАХ

Метрологические характеристики	Действующие вещества		
	Кальция хлорид	Калия фосфат двузамещенный	Натрия фторид
Результат отдельного определения, X, г	3,93×10 ⁻³ 3,99×10 ⁻³ 4,06×10 ⁻³ 4,17×10 ⁻³ 4,19×10 ⁻³	6,67×10 ⁻³ 6,61×10 ⁻³ 6,91×10 ⁻³ 6,94×10 ⁻³ 6,89×10 ⁻³	1,00×10 ⁻⁴ 1,03×10 ⁻⁴ 0,99×10 ⁻⁴ 1,00×10 ⁻⁴ 1,02×10 ⁻⁴
Среднее значение результатов определения, \bar{X} , г	4,07×10 ⁻³	6,80×10 ⁻³	1,01×10 ⁻⁴
Стандартное отклонение среднего результата, S, г	1,1×10 ⁻⁴	1,5×10 ⁻⁴	0,2×10 ⁻⁵
Доверительный интервал среднего результата, $\Delta\bar{X}$	1,4×10 ⁻⁴	1,9×10 ⁻⁴	0,2×10 ⁻⁵
Относительная ошибка отдельного результата, ϵ , %	7,692 7,454 7,947 7,827 7,489	6,346 6,403 6,125 6,099 6,143	4,888 4,746 4,958 4,888 4,793
Относительная ошибка среднего результата, $\bar{\epsilon}$, %	3,43	2,78	2,17

Доверительные интервалы свидетельствуют о соответствии критериям приемлемости.

Линейность. Требования к параметрам линейной зависимости исследованы в диапазоне концентраций от 70% до 130% от заявленного количества ДВ. Полученные результаты обработаны в виде графика зависимости расхода титранта – для комплексонометрического метода и оптической плотности – для фотоэлектроколориметрического метода от количества определяемых ДВ. Коэффициенты корреляции регрессионных графиков для всех определяемых ДВ составили 0,999. Диапазон концентраций от 70% до 130% от заявленного количества ДВ можно определить как аналитическую

область разработанных методик. Параметры линейной зависимости соответствуют требованиям ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [4].

Правильность. Правильность методик оценивалась по результатам анализа модельных смесей. Проведено по три параллели определений для семи аналитических концентраций в интервале от 70% до 130% от заявленного состава. Отношение «найденно – введено» (Z_i) находится в интервале от 97% до 102%. Отклонение \bar{Z} от 100% не превышает доверительный интервал. Систематическая погрешность статистически неотличима от нуля. Полученные результаты свидетельствуют

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДВ В ГЕЛЕ

Метрологические характеристики	Действующие вещества		
	Кальция хлорид	Калия фосфат двузамещенный	Натрия фторид
Результат отдельного определения, X, г	7,58	13,49	0,207
	7,47	13,51	0,199
	7,48	13,47	0,205
	7,45	13,5	0,198
	7,58	13,45	0,200
Среднее значение результатов определения, \bar{X} , г	7,51	13,48	0,202
Стандартное отклонение среднего результата, S, г	$6,3 \times 10^{-2}$	$2,4 \times 10^{-2}$	$0,4 \times 10^{-2}$
Доверительный интервал среднего результата, $\Delta\bar{X}$	$7,83 \times 10^{-2}$	$2,99 \times 10^{-2}$	$4,9 \times 10^{-3}$
Относительная ошибка отдельного результата, ϵ , %	2,311	0,496	5,321
	2,345	0,496	5,535
	2,342	0,497	5,373
	2,351	0,496	5,563
	2,311	0,498	5,508
Относительная ошибка среднего результата, $\bar{\epsilon}$, %	1,04	0,222	2,441

об удовлетворительной *правильности* методик. Результаты количественного определения ДВ в геле для лечения кариеса эмали представлены в табл. 2. Содержание ДВ приведено на 100,0 г геля.

Доверительные интервалы составили: $7,51 \pm 7,8 \times 10^{-2}$ г для кальция хлорида, $13,48 \pm 2,99 \times 10^{-2}$ г для калия фосфата двузамещенного и $0,202 \pm 0,5 \times 10^{-2}$ г для натрия фторида. По величинам стандартного отклонения и доверительному интервалу можно сделать заключение об удовлетворительной прецизионности (повторяемости) предложенных методик под влиянием внутрилабораторных вариаций.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенных исследований изучены валидационные характеристики методик испытания на «подлинность» и «количественное определение» основных ДВ в пленках и гелях для профилактики и лечения кариеса эмали.

2. Валидированные методики апробированы в Региональном испытательном центре «Фарматест» Пермской государственной фармацевтической академии и в условиях аптеки МСЧ №140 ФГБУЗ ПКЦ ФМБА (г. Пермь). Установлено, что разработанные аналитические методики специфичны, имеют линейную

зависимость в аналитической области $\pm 30\%$ от заявленного количества ДВ, удовлетворительную правильность, повторяемость.

3. Валидированные методики использованы при стандартизации пленок и гелей по показателям «подлинность» и «количественное определение», при хранении методом долгосрочных испытаний стабильности, включены в проект ФС и Методические указания по изготовлению и контролю качества пленок и гелей в условиях аптечных организаций.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Голованенко А.Л. Обзор реминерализующих лекарственных средств, применяющихся для профилактики и лечения начального кариеса эмали // Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. №2. С. 37–43.
2. Березина Е.С. Разработка методик качественного и количественного определения фторидов в геле реминерализующего действия / Е.С. Березина, А.Л. Голованенко // Современные проблемы науки и образования. 2012. №6 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/106-7410> (дата обращения: 13.11.2012).
3. Березина Е.С., Голованенко А.Л., Алексева И.В. Разработка методик качественного и количественного определения фосфатов в пленках лекарственных реминерализующего действия // Фармация. 2015. №1. С. 7–9.
4. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик: Вводится впервые / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 1. – С. 276–288 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).
5. ОФС.1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента: взамен ст. ГФ XI, вып. 1 / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 1. – С. 289–318 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).
6. ОФС.1.2.2.0001.15. Общие реакции на подлинность / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 1. – С. 934–942 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).
7. ОФС.1.2.3.0015.15. Комплексонометрическое титрование: взамен ГФ X, взамен ст. ГФ XI, вып. 1 / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 1. – С. 1055–1058 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).
8. ОФС.1.2.1.1.0012.18. Фотометрия: взамен ГФ X, взамен ст. ГФ XI, вып. 1 / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 1. – С. 835–839 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).
9. ФС.2.2.0024.18. Кальция хлорид гексагидрат: взамен ГФ X, ст. 119 / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. III. – С. 3961–3963 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).
10. ФС.2.2.0013.15. Натрия фторид / Государственная фармакопея РФ XIV изд. – Москва, 2018. – Т. III. – С. 4441–4443 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 24.09.2022).

GENERAL APPROACHES TO THE VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS IN DOSAGE FORMS FOR ENAMEL REMINERALIZATION

A.L. Golovanenko, E.S. Berezina, I.V. Alexeeva

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

During the preparation of regulatory documentation for films and gels for the prevention and treatment of enamel caries, methods were modified, tested and validated for authenticating and quantifying the main active ingredients: calcium chloride, dibasic potassium phosphate, sodium fluoride. Both chemical and physicochemical methods were used, modified taking into account the specifics of dosage forms. The article presents the results of validation of methods of testing for authenticity and quantitative determination of active substances in remineralizing films and gels. As a result of the studies, it was found that validated methods for testing for authenticity and quantitative determination can be recommended for inclusion in the regulatory documentation for the developed films and gels.

Keywords: validation, enamel caries, films, gels, authenticity, quantification, specificity, linearity, correctness, repeatability

УДК 615.322:58.02

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.42.79.004>

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА SATUREJA MONTANA L. И ЕГО КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ПРИ РАЗНЫХ ВИДАХ ФЕРМЕНТАЦИИ

Е.В. Бурцева, канд. фарм. наук, доцент кафедры медицинской и фармацевтической химии, ИБТЭФ ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» Министерства науки и высшего образования России, г. Симферополь, BurtsevaEV2009@yandex.ru

Е.В. Кулдыркаева, канд. фарм. наук, заместитель генерального директора по науке, АО «Алуштинский эфиромасличный совхоз-завод» Министерства сельского хозяйства Республики Крым, г. Алушта, auka@aemsz.ru

И.С. Мехоношина, старший провизор ООО «Пульсар», аптека Алое Минздрава России, г. Москва, r.u.b.i.n.c.h.i.k.shmdev@gmail.com

В ходе проведения исследования было изучено влияние различных климатогеографических условий произрастания и ферментации *Satureja montana* L. на содержание в нем эфирного масла и его компонентный состав. В процессе проведенных исследований установлено, что самое высокое накопление эфирного масла наблюдается при условиях высушивания сырья, при этом выход эфирного масла составляет более 1%. Следует отметить, что эфирное масло *Satureja montana* L. содержит разнообразное количество душистых компонентов, среди которых особую ценность представляют карвакрол и тимохинон.

Ключевые слова: *Satureja montana* L., эфирное масло, ферментация, хроматографический анализ

Satureja montana L. (чабер горный) – это пряно-ароматическое и эфиромасличное растение семейства Яснотковые (Lamiaceae), которое преимущественно используется в пищевой промышленности, является декоративным и медоносным растением [1]. В настоящее

время это растение представляет интерес и для фармацевтической промышленности. Эфирное масло чабера содержит большое количество биологически активных соединений [2–4]. Основными являются ароматические оксигенированные монотерпены тимол и карвакрол [2,3]. Также в чабере горном содержится тимохинон, который имеет большое значение для фармацевтической промышленности благодаря своим противоопухолевым, нейропротекторным, противомикробным, антиоксидантным, противовоспалительным и многим другим фармакотерапевтическим свойствам [5–10]. Как известно, фитохимический состав одного вида растения может изменяться в зависимости от географических условий и условий произрастания, а также от особенностей хранения и метода заготовки [2]. Соответственно, путем изменения этих параметров можно изменять содержание и состав эфирного масла в растении в зависимости от поставленных задач. Исходя из этого, актуальным на сегодня является изучение влияния условий хранения на компонентный состав и содержание эфирного масла в чабере горном.

Таблица 1

СОДЕРЖАНИЕ И КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ЭФИРНОГО МАСЛА ТРАВЫ ЧАБЕРА ГОРНОГО

Условия хранения	Продолжительность ферментации	Содержание эфирного масла в пересчете на абсолютно сухое сырье, %	Компонентный состав эфирного масла, %									
			Карвакрол	γ-терпинен	п-цимен	β-мирцен	β-туйен	Гермакрен	Эвкалиптол	ТИМОХИНОН	линалоол	1-октен-3-ол
Трава чабера горного, выращенного в условиях субтропического средиземноморского климата в зоне вечнозеленых жестколистных лесов												
Свежесобранная трава	–	0,54±0,01	55,91	10,36	6,68	1,63	1,08	3,2	0,32	1,06	1	1,72
В темном месте при комнатной температуре	5 дней	0,17±0,01	60,88	5,94	9,86	–	0,69	1,62	0,33	5,47	–	–
	11 дней	0,16±0,01	59,68	1,3	18,55	–	1,33	1,41	0,36	5,48	–	–
	14 дней	0,14±0,01	51,33	1,4	22,43	–	1,71	1,03	0,45	5,5	–	–
В темном месте при температуре 6°C	5 дней	0,47±0,01	61,95	10,86	6,99	–	1,43	1,77	0,38	0,68	–	–
	11 дней	0,49±0,01	63,22	8,96	8,39	–	1,46	1,13	0,4	0,72	–	–
	14 дней	0,49±0,01	62,87	9,61	7,41	–	1,49	1,72	0,35	0,76	–	–
На открытом воздухе без доступа кислорода	5 дней	0,47±0,01	52,84	10,74	11,33	–	1,86	2,55	0,43	1,14	–	–
	11 дней	0,46±0,01	54,82	5,04	16,46	–	1,76	1,31	0,39	1,41	–	–
	14 дней	0,43±0,01	54,56	3,11	17,23	–	1,56	0,81	0,32	2,74	–	–
Воздушно-теневое хранение	5 дней	0,56±0,01	55,73	11,3	10,13	–	1,7	2	0,38	1,05	–	–
	11 дней	0,52±0,01	50,31	9,85	14,46	–	1,85	1,89	0,41	0,79	–	–
	14 дней	0,51±0,01	51,29	9,49	14,58	–	1,96	1,62	0,41	0,31	–	–
Сухая трава	–	1,18±0,01	58,79	10,41	8,33	–	1,58	1,26	0,35	0,25	–	–
Трава чабера горного, выращенного в условиях умеренно-континентального климата в предгорной зоне Крыма												
В темном месте при комнатной температуре	4 дней	0,27±0,01	51,87	13,52	11,46	2,01	1,68	1,08	1,04	0,59	–	–
	7 дней	0,29±0,01	52,77	12,26	12,61	–	1,69	0,73	1,15	3,11	–	–
	25 дней	0,36±0,01										
В темном месте при температуре 6°C	5 дней	0,21±0,01	54,65	12,6	9,31	–	1,99	1,49	1,43	0,66	–	–
	8 дней	≈0,09±0,01										
Воздушно-теневое хранение	4 дня	0,41±0,01	53,21	14,06	11,15	2,09	1,93	1,2	1,06	0,63	–	–
	7 дней	0,36±0,01	47,23	15,83	14,15	–	2,39	0,65	1,31	0,45	–	–
	15 дней	0,31±0,01	41,88	6,67	25,35	–	2,56	0,71	1,27	0,97	1,4	–

ние эфирного масла наблюдается при условиях высушивания сырья, при котором выход эфирного масла составляет более 1%. Кроме того, отмечается значительный выход эфирного масла (более 0,5%) в условиях воздушно-теневого ферментации. При этом самое низкое содержание эфирного масла наблюдается при ферментации в темном месте при комнатной температуре воздуха.

Следует отметить, что эфирное масло чабера содержит разнообразное количество душистых компонентов, среди которых особый интерес представляют карвакрол и тимохинон.

Рассмотрим изменения содержания этих компонентов при разных условиях хранения в сырье, собранном в зоне вечнозеленых жестколистных лесов с субтропическим средиземноморским типом климата. Полученные данные указывают на самое высокое содержание карвакрола в сырье чабера, которое подвергалось ферментации в темном месте и при температуре воздуха 6°C. При этом содержание карвакрола в сухом сырье несколько ниже. Важно отметить, что накопление вышеуказанного БАВ при других условиях ферментации находится приблизительно на одном уровне.

Относительно динамики накопления тимохинона при разных условиях ферментации следует выделить выдерживание сырья при комнатной температуре в темном месте. При таком способе ферментации наблюдается максимальное накопление тимохинона (табл. 1, рис. 1).

Важно также отметить подобную закономерность и для сырья чабера, выращенного в предгорной зоне Крыма.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований изучено влияние климатических и географических условий произрастания и условий

ферментации травы чабера горного на содержание в ней эфирного масла и отдельных его компонентов, выявлены некоторые закономерности изменения количества эфирного масла в сырье и его компонентного состава под влиянием вышеуказанных факторов. Стоит отметить, что указанные факторы по-разному влияют на содержание эфирного масла и отдельных его компонентов в сырье. Так, максимальное содержание эфирного масла зарегистрировано в высушенном сырье, а наибольшей концентрации карвакрола и тимохинона (наиболее значимых компонентов эфирного масла) удалось добиться ферментацией в темном месте при температуре 6°C и в темном месте при комнатной температуре соответственно. Настоящие результаты подтверждают литературные данные об изменении фитохимического состава растения под влиянием различных географических факторов и особенностей хранения [2]. В ходе исследования была предпринята попытка определить оптимальное время ферментации сырья в тех или иных условиях для получения максимального выхода определенных компонентов. Данное исследование позволило выявить общие закономерности изменения содержания и состава эфирного масла в сырье чабера горного под действием различных условий произрастания и хранения, что ляжет в основу дальнейших более подробных исследований. Главной целью дальнейших исследований может являться определение оптимальных условий и времени ферментирования, условий выращивания сырья для получения максимального выхода того или иного компонента. На наш взгляд, наиболее актуальным является выявление таких условий для тимохинона, которые позволят получить сырье с максимальным его содержанием. Такое сырье может служить источником получения тимохинона, интерес к которому в научной, фармацевтической, медицинской сферах значительно возрос в последние годы ввиду

его высокой фармакотерапевтической активности.

Авторы статьи выражают благодарность следующим организациям за предоставленное для исследования сырье:

1. Сотрудникам Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»;

2. Сотрудникам Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма».

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Марко Н.В., Хлыпенко Л.А. Проблемы и перспективы развития современной ландшафтной архитектуры: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 25–28 сентября 2017 г., Симферополь, с. 222–226.
2. Alessandro Maccelli, Luca Vitanza, Anna Imbriano, Caterina Frascchetti, Antonello Filippi, Paola Goldoni, Linda Maurizi, Maria Grazia Amendolia, Maria Elisa Crestoni, Simonetta Fornarini, Luigi Menghini, Maria Carafa, Carlotta Marianecchi, Catia Longhi, Federica Rinaldi. *Saturejamontana* L. Phytochemical Screening, Antimicrobial Activity and O/W NanoEmulsion Formulations. *Pharmaceutics*. 2019 Dec 19; 12(1): 7. DOI: 10.3390/pharmaceutics12010007
3. Grosso C., Figueiredo A.C., Burillo J., Mainar A.M., Urieta J.S., Barroso J.G., Coelho J.A., Palavra A.M. Enrichment of the thymoquinone content in volatile oil from *Saturejamontana* using supercritical fluid extraction // *J. Sep. Sci.* 2009 Jan; 32(2): 328–34. DOI: 10.1002/jssc.200800490. PMID: 19156634.
4. Hudz N., Makowicz E.; Shanaida M., Białoń M., Jasicka-Misiak I., Yezerska O., Svydenko L., Wiczorek P.P. *Molecules*. 2020, 25, 4763. <https://doi.org/10.3390/molecules25204763>
5. Imran M., Rauf A., Khan I.A., Shahbaz M., Qaisrani T.B., Fatmawati S., Abu-Izneid T., Imran A., Rahman K.U., Gondal T.A. *Biomed Pharmacother*. 2018 Oct; 106: 390–402. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.06.159. Epub 2018 Jul 11. PMID: 29966985.
6. Erdivanli B., Ozdemir A., Sen A., Mercantepe T., Kazdal H., Uydu H.A., Tumkaya L. *Biomarkers*. 2022 Feb; 27(1): 95–100. DOI: 10.1080/1354750X.2021.2016972. Epub 2021 Dec 16. PMID: 34890510.
7. Jehan S., Huang J., Farooq U., Basheer I., Zhou W. *Phytomedicine*. 2022 Jan 17; 98:153936. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.153936. Epub ahead of print. PMID: 35114449.
8. Qureshi K.A., Imtiaz M., Parvez A., Rai P.K., Jaremko M., Emwas A.H., Bholay A.D., Fatmi M.Q. *In Vitro and In Silico Antibiotics (Basel)*. 2022 Jan 10; 11(1):79. DOI: 10.3390/antibiotics11010079. PMID: 35052956; PMCID: PMC8773234.
9. Samad N., Manzoor N., Muneer Z., Bhatti S.A., Imran I. Reserpine-induced altered neuro-behavioral, biochemical and histopathological assessments prevent by enhanced antioxidant defence system of thymoquinone in mice // *Metab. Brain. Dis.* 2021 Dec; 36(8): 2535–2552. DOI: 10.1007/s11011-021-00789-2. Epub 2021 Jul 26. PMID: 34309746.
10. Khazdair M.R., Ghafari S., Sadeghi M. *Pharm Biol*. 2021 Dec; 59(1): 696–703. DOI: 10.1080/13880209.2021.1931353. PMID: 34110959; PMCID: PMC8204995.

STUDY OF THE ESSENTIAL OIL CONTENT OF SATUREJA MONTANA L. AND ITS COMPONENT COMPOSITION IN DIFFERENT TYPES OF FERMENTATION

Yel.V. Burtseva, E.V. Kuldyrkaeva, I.S. Mekhonoshina

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Russia

In the course of the study was the influence of various climatic-geographical conditions of the growth and fermentation of Satureja montana L. on the content of essential oil in it and its component composition. In the course of the conducted research it was found that the highest accumulation of essential oil is observed under the conditions of drying of raw materials, while the yield of essential oil is more than 1%. It should be noted that Satureja montana L. essential oil contains a diverse number of fragrant components, among which carvacrol and thymoquinone are of special worth.

Keywords: Satureja montana L., essential oil, fermentation, chromatographic analysis

УДК 615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.93.26.005>

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТРЕХРЕБЕРНИКЕ НЕПАХУЧЕМ ЦВЕТКАХ

О.Л. Блинова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, oblinova@mail.ru

А.А. Гилева, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, angelinaustinova@mail.ru

В.Д. Белоногова, доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, belonogovavd@yandex.ru

В работе представлена валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *Tripleurospermum inodorum flores* спектрофотометрическим методом анализа. Установлены валидационные характеристики: линейность, прецизионность (повторяемость, воспроизводимость) и правильность. Содержание флавоноидов в пересчете на рутин в образцах сырья составило $4,08 \pm 0,042\%$. Разработанная методика является валидной, точной, воспроизводимой и доступной.

Ключевые слова: валидация, методика, *Tripleurospermum inodorum (L.) Sch. Bip.*, лекарственное растительное сырье, флавоноиды, спектрофотометрия

В научной медицине широко используются ромашки аптечной цветки *Chamomilla recutitae flores* [1], обладающие спазмолитическим, противовоспалительным, желчегонным, антивирусным, акарицидным, репеллентным действием [2]. По внешним признакам к ромашке аптечной близок трехреберник

непахучий, который может быть ошибочно заготовлен вместо нее.

Трехреберник непахучий (ромашка непахучая, трехреберник перфорированный) – *Tripleurospermum inodorum (L.) Sch. Bip.* – относится к отделу *Magnoliophyta* – Цветковые растения, классу *Magnoliopsida* – Двудольные растения, порядку *Asterales* – Астроцветные, семейство *Asteraceae* – Астровые, роду *Tripleurospermum* – Трехреберник, виду *inodorum (L.) Sch. Bip.* – непахучий [3].

По литературным данным [4,5], в химическом составе трехреберника непахучего, обнаружены моно- и сесквитерпеноиды, фенилпропаноиды, производные фурана, бензола, дубильные вещества, органические кислоты и флавоноиды.

По сравнению с ромашкой аптечной трехреберник непахучий имеет достаточную сырьевую базу на территории России, которая обеспечена за счет дикорастущих видов [3], обладает близким фармакологическим действием. Так, порошок соцветий трехреберника непахучего обладает акарицидным действием, этанольный экстракт проявляет

антивирусную активность в отношении полиовируса II типа и вируса герпеса I типа, порошок соцветий – инсектицидную и репеллентную активность [5].

Таким образом, *Tripleurospermum inodorum* является перспективным видом для введения в научную медицину.

Поскольку отдельные виды фармакологической активности трехреберника непахучего обусловлены наличием фенольных соединений – флавоноидов (табл. 1), считаем целесообразным проводить стандартизацию сырья по данной группе веществ.

Ранее нами была разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин для *Tripleurospermum inodorum flores* с использованием дифференциальной спектрофотометрии. Чтобы методика занимала достойное место в системе обеспечения качества и гарантировала достоверные и точные результаты анализа, она должна быть валидна [6].

Цель исследования – валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *Tripleurospermum inodorum flores* с использованием дифференциальной спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Валидация методики проводилась в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания по параметрам: линейность, прецизионность и правильность [6]. Данные критерии определяли с помощью дифференциальной спектрофотометрии [7] на спектрофотометрах СФ-2000 и Shimadzu UV-1800.

Валидацию разработанной методики проводили на объединенном образце трехреберника непахучего цветков, полученном путем смешивания в равных количествах образцов,

собранных в Пермском крае, Свердловской области, окрестностях г. Курган, Удмуртии и Чувашии в течение 2017–2020 гг.

Валидируемая методика [8]. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих через сито 2 мм. Около 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, добавляют 50 мл спирта 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 60 мин., периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение охлаждают, фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу на 50 мл, доводят до метки спиртом 70% (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 1 мл алюминия хлорида раствора 2% в спирте 96%, 1 каплю уксусной кислоты 5% и доводят до метки 96% спиртом. Через 40 мин. измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм (раствор Б).

Раствор сравнения: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 1 каплю уксусной кислоты 5% и доводят до метки 96% спиртом.

Приготовление СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130–135°C в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на водяной бане в 85 мл 96% спирта, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А – СО рутина).

1 мл раствора А СО рутина, 1 капля уксусной кислоты 5%, 1 мл алюминия хлорида раствора 2% в спирте 96%, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят 96% спиртом до метки (раствор Б – СО рутина).

Содержание суммы флавоноидов в трехребернике непахучем цветках в пересчете

Таблица 1

**СВЕДЕНИЯ О ХИМИЧЕСКОМ СОСТАВЕ РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ ЦВЕТКОВ
И ТРЕХРЕБЕРНИКА НЕПАХУЧЕГО**

Биологически активные вещества	Ромашка аптечная	Трехреберник непахучий
1. Эфирное масло и горечи	0,24–1,9%	0,35–0,85%
2. Фенольные соединения:		
2.1. Флавоноиды:	1,48–2,76%	
2.1.1. Производные флавонола:		
Апигенин (5,7,4'-триоксифлавонол):	+	
Гликозиды апигенина:		
7-о-в-глюкозид	+	
7-в-Д-(2''-о-ацетил)-глюкозид	+	
7-(2'',3''-о-диацетил)-глюкозид	+	
7-(3'',4''-о-диацетил)-глюкозид	+	
5,4'-диокси-7-апио-7-глюкозид (апиин)	+	+
5,4'-диокси-7-в-Д-глюкозид (космосин)	+	
Лютеолин (5,7,3',4'-тетраоксифлавонол)	+	
Гликозиды лютеолина:		
4'-глюкозид	+	+
7-о-глюкозид (цинарозид)	+	
Хризозеолин (5,7,4'-триокси-3'-метоксифлавонол)	+	
2.1.2. Производные флавонола:		
Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонол)	+	
Гликозиды кверцетина:		
5,7,3',4'-тетраокси-3-в-Д-галактозид (гиперозид)	+	
5,7,3',4'-тетраокси-3-рутинозид (рутин)	+	
5,7,3',4'-тетраокси-7-в-Д-глюкозид (кверцетин)	+	
6,8-диметилэфир 6,8-дигидроксикверцетина	+	
3,6,7,3'-тетраметилэфир кверцетина	+	
6-метилэфир 6-гидрокси кемпферола	+	
Изорамнетин (3,5,7,4'-тетраокси-3'-метоксифлавонол)	+	
Патулетин (3,5,7,3',4'-пентаокси-6-метоксифлавонол)	+	
Яцендин (5,7,4'-триокси-3,6,3'-триметоксифлавонол)	+	
Хризоспленол (5,2'-диокси-3,7,4',5'-тетраметоксифлавонол)	+	
Спинацетин (3,5,7,4'-тетраокси-6,3'-диметоксифлавонол)	+	
Аксилларин (5,7,3',4'-тетраокси-3,6-диметоксифлавонол)	+	
Эупалитин	+	
2.2. Кумарины (умбеллиферон, герниарин)	+	
2.3. Фенолкарбоновые кислоты (салициловая, кофейная и др.) и их производные	+	
2.4. Дубильные вещества	+	+

Биологически активные вещества	Ромашка аптечная	Трехреберник непахучий
3. Полисахариды (слизи)	+	
4. Стероиды	+	
5. Азотсодержащие соединения (холин)	0,07%	
6. Полиацетиленовые соединения	+	+
7. Витамины (витамин С)	+	+
8. Макроэлементы (калий, кальций, магний, железо)	+	
9. Микроэлементы (марганец, медь, цинк, кобальт и др.)	+	
10. Пиретрины		+

на рутин на абсолютно сухое сырье в % вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 50}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность (раствор В) испытуемого раствора; А₀ – оптическая плотность (раствор Б) СО рутина; а₀ – навеска СО рутина в граммах; а – навеска сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании в %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении валидационных исследований были установлены характеристики разработанной методики: линейность, прецизионность (повторяемость, воспроизводимость) и правильность.

Содержание флавоноидов в пересчете на рутин в образцах сырья составило 4,08±0,042%.

Линейность определяли на пяти уровнях концентрации. Растворы готовили путем увеличения аликвоты по следующей схеме:

- 1-й уровень: аликвота раствора А 1,0 мл – объем раствора Б 1,0 мл (100%);

- 2-й уровень: аликвота раствора А 1,5 мл – объем раствора Б 1,5 мл (150%);
- 3-й уровень: аликвота раствора А 2,0 мл – объем раствора Б 2,0 мл (200%);
- 4-й уровень: аликвота раствора А 2,5 мл – объем раствора Б 2,5 мл (250%);
- 5-й уровень: аликвота раствора А 3,0 мл – объем раствора Б 3,0 мл (300%).

Критерий приемлемости – коэффициент корреляции составил 1,000 (рис. 1). На осно-

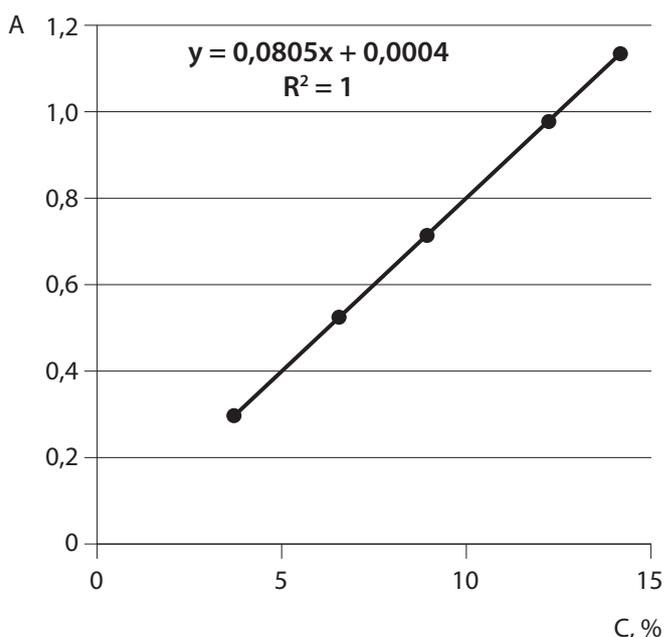


РИС. 1. Линейная зависимость оптической плотности раствора

Таблица 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОВТОРЯЕМОСТИ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ

Повторность	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в трехребернике непахучем цветках, %
1	4,09
2	3,95
3	4,04
4	4,87
5	3,87
6	4,09
7	4,24
8	4,23
9	4,00
10	4,11
Среднее значение	4,15
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	0,278%

Таблица 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОЙ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ МЕТОДИКИ

Повторность	Аналитик	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в образцах травы якорцев стелющихся, %		
		Удмуртская Республика, с. Шаркан, 2018 г.	Окрестности г. Перми, 2020 г.	Чувашская Республика, п. Ибреси, 2020 г.
1	1	3,82	3,99	4,51
2	1	4,15	3,76	4,44
3	1	3,93	4,15	4,42
4	2	4,15	4,42	4,37
5	2	3,92	3,85	4,58
6	2	3,58	4,15	4,69
Среднее значение		3,93	4,05	4,50
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,215%	0,238%	0,118%

вании полученных данных можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость между величинами оптической плотности и содержанием суммы флавоноидов в извлечениях из трехреберника непахучего цветков в интервале концентраций 100–300% от номинального значения определяемой величины.

Повторяемость методики определяли в десятикратной повторности, в одной лаборатории в идентичных условиях, с использованием одного и того же оборудования, одним и тем же исследователем, в пределах короткого промежутка времени. Критерий приемлемости выражался величиной относитель-

Таблица 4

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕЖЛАБОРАТОРНОЙ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ

№ п/п	Место сбора	Повторность	Содержание суммы флавоноидов, %	
			СФ-2000, кафедра фармакогнозии с курсом ботаники	UV-1800 Shimadzu, РИЦ «Фарматест»
1.	Удмуртская Республика, с. Шаркан, 2018 г.	1	3,82	3,89
		2	4,15	3,98
		3	3,93	4,16
		Среднее значение	3,97	4,01
		Относительное стандартное отклонение (RSD), % при $f = 2$	0,168%	0,137%
2.	Окрестности г. Перми, 2020 г.	1	3,99	3,69
		2	3,76	3,83
		3	4,15	4,35
		Среднее значение	3,97	3,96
		Относительное стандартное отклонение (RSD), % при $f = 2$	0,196%	0,348%
3.	Чувашская Республика, п. Ибреси, 2020 г.	1	4,51	4,73
		2	4,44	4,15
		3	4,42	4,61
		Среднее значение	4,46	4,50
		Относительное стандартное отклонение (RSD), % при $f = 2$	0,047%	0,306%

Таблица 5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИКИ

№ п/п	Место сбора	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, мг	Добавлено СО рутин, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Ошибка, %
1.	Удмуртская Республика, с. Шаркан, 2018 г.	38,2	0,05	38,25	38,46	0,55
		41,5	0,1	41,6	41,85	0,60
		39,3	0,15	39,45	39,50	0,13
2.	Окрестности г. Перми, 2020 г.	39,9	0,05	39,95	40,18	0,57
		37,6	0,1	37,7	37,9	0,53
		41,5	0,15	41,65	41,45	0,48
3.	Чувашская Республика, п. Ибреси, 2020 г.	45,1	0,05	45,15	45,38	0,51
		44,4	0,1	44,5	44,67	0,38
		44,2	0,15	44,35	44,77	0,94

ного стандартного отклонения RSD, которое не должно превышать 10% (табл. 2).

Внутрилабораторную воспроизводимость методики определяли два провизора-аналитика кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ПГФА. Исследования проводили на трех образцах в трехкратной повторности на спектрофотометре СФ-2000 (табл. 3).

Межлабораторную воспроизводимость методики проводили на трех образцах в трех-

кратной повторности в двух лабораториях (на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники ПГФА на спектрофотометре СФ-2000 и в лаборатории РИЦ «Фарматест» на спектрофотометре Shimadzu UV-1800). Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 15% (табл. 4).

Результаты определения подтверждают прецизионность методики в условиях внутри-

Таблица 6

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА

n	f	\bar{X}	S ²	S	P, %	t(p,f)	$\Delta\bar{X}$	ϵ	δ , %
5	4	4,6466	0,0052	0,0722	95	2,57	0,0896	0,032	1,93

где n – количество повторностей; f – число степеней свободы (n – 1); \bar{X} – среднее арифметическое; S² – дисперсия; S – стандартное отклонение; P – доверительная вероятность; t(p,f) – критерий Стьюдента (табличное значение); $\Delta\bar{X}$ – ошибка среднего арифметического; ϵ – относительная ошибка результата отдельного определения; δ – относительная величина систематической ошибки

лабораторной и межлабораторной воспроизводимости, так как относительное стандартное отклонение не превысило 15%.

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в растворах, полученных путем добавления необходимого количества стандарта к исследуемому раствору непосредственно в извлечение из трехреберника непахучего цветков (табл. 5).

Результаты показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения и не превышает 1,93% (табл. 6).

ВЫВОДЫ

Разработанная методика спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *Tripleurospermum inodorum flores* валидна, не требует дорогостоящих реактивов, является точной, воспроизводимой и доступной.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. ФС.2.5.0037.15 Ромашки аптечной цветки [Электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издания. Режим доступа: resource.ruscml.ru/feml/pharmacopia/14_4/HTML/1211/index.html
2. Государственный реестр лекарственных средств. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>
3. Плантариум: открытый онлайн-атлас и определитель растений. Режим доступа: <https://www.plantarium.ru>
4. Велиханова З.Р. Содержание биологически активных веществ в цветках трехреберника продырявленного / З.Р. Велиханова, А.И. Марахова, А.А. Сорокина // Фармация, 2017; т. 66(8). – С. 9–12.
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды *Echinops* – *Youngia* / Отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. – С. 132–133.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик. [Электронное издание] Режим доступа: http://resource.ruscml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/276/index.html#zoom=zz
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. ОФС.1.2.1.1.0003.15. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях. [Электронное издание] Режим доступа: http://resource.ruscml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/752/index.html#zoom=z.
8. Блинова О.Л. и др. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в трехребернике непахучем цветках / О.Л. Блинова, А.А. Гилева, А.В. Хлебников, В.Д. Белоногова, А.Ю. Турышев // Медико-фармацевтический журнал «Пульс» – 2021. – Т. 23, №6. – С. 48–50. [Электронное издание] Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2021-23-6> 2021.

VALIDATION OF THE TECHNIQUE FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE SUM OF FLAVONOIDS IN THE TRIPLEUROSPERMUM INODORUM FLORES

O.L. Blinova, A.A. Gileva, V.D. Belonogova

Perm State Pharmaceutical Academy, Ministry of Health of the Russia, Perm, Russia

The paper presents the validation of the method for the quantitative determination of the amount of flavonoids in terms of rutin in Tripleurospermum inodorum flores by the spectrophotometric method of analysis. The validation characteristics were established: linearity, precision (repeatability, reproducibility) and correctness. The content of flavonoids in terms of rutin in the samples of raw materials was $4.08 \pm 0.042\%$. The developed technique is valid, accurate, reproducible and accessible.

Keywords: validation, methods, *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., medicinal plant materials, flavonoids, spectrophotometry

УДК 615.453.6

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.47.12.006>

ПРИМЕНЕНИЕ УРАВНЕНИЙ ХЕККЕЛЯ И КАВАКИТЫ В ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК ГСБ-106

В.В. Буюева, младший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», г. Москва, vikabueva@yandex.ru

Е.В. Блынская, доктор фарм. наук, заведующая лабораторией готовых лекарственных средств опытно-технологического отдела, ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», г. Москва

К.В. Алексеев, доктор фарм. наук, профессор главный научный сотрудник лаборатории готовых лекарственных форм, ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», г. Москва

С.В. Тишков, канд. фарм. наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», г. Москва, sergey-tishkov@ya.ru

С.В. Минаев, канд. фарм. наук, руководитель отдела ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

Проведены исследования механизмов, преобладающих в процессе прессования, с применением уравнений Хеккеля и Кавакиты, в результате которого описан процесс прессования таблеточной смеси и получены значения давлений: оптимального давления прессования и давления, необходимого для уменьшения материала в объеме на 50%.

Ключевые слова: ГСБ-106, когезивность, прессование, уравнение Хеккеля, уравнение Кавакиты

В фармацевтической промышленности процесс прессования сыпучих материалов играет важную роль в ходе производства лекарственных препаратов (ЛП), поскольку таблетки составляют около 90% от всех изготавливаемых лекарственных форм (ЛФ). В связи с этим необходимо иметь представление об изменении свойств порошков в процессе прессования и возможности качественного и количественного описания данного процесса с применением соответствующих параметров. На основании полученных данных

возможна оценка пригодности сыпучего материала для разработки ЛФ или возможности улучшения его характеристик [1].

В основе процесса прессования лежит зависимость параметров прессования, таких как пористость, насыпной объем (или плотность) относительно накладываемого давления. Во время уплотнения порошка в результате сближения частиц материала уменьшаются пустоты между ними, таким образом, межчастичные связи становятся прочнее, а сыпучая масса превращается в брикет. Вследствие перераспределения частиц, их фрагментации и пластической деформации изменяется структура порошкового материала. Данный процесс является сложным и необратимым [1,2].

На практике применяется несколько математических моделей, характеризующих процесс прессования. К настоящему времени универсальным методом, позволяющим описать механизм уменьшения насыпного объема при прессовании таблеток, является уравнение Хеккеля [3].

Для более достоверного описания процесса прессования сыпучих материалов принято

использовать дополнительные математические методы, одним из которых является уравнение Кавакиты [1,4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фармацевтическая субстанция ГСБ-106 (ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия).

Вспомогательные вещества: лактозы моногидрат (Lactochem® Fine Powder, DFE Pharma, Германия), микрокристаллическая целлюлоза (Microcel® MC 101, Blanver Farmoquimica Ltda, Бразилия), сополимер поливинилового спирта и полиэтиленгликоля (Kollicoat® IR BASF, Германия), вода очищенная (ФС.2.2.0020.15), магния стеарат (magnesium stearate) (EP 01/2008:0229).

Методика: пикнометрически определяют истинную и насыпную плотности таблеточной массы. Затем проводят прессование таблеточной массы на ручном гидравлическом прессе ПРГ-50. Наложение давления осуществляется с одинаковой скоростью, максимальное давление удерживается в течение 20 секунд, после чего готовую таблетку выталкивают нижним пуансоном, и через 15 минут проводится измерение характеристик. К измеряемым характеристикам получаемых таблеток относятся следующие: высота и масса таблетки, прочность на раздавливание, плотность брикета, пористость (ϵ), степень уменьшения объема (C).

На основании полученных данных стоят графики зависимости в соответствии с уравнениями Хеккеля и Кавакиты.

Уравнение Хеккеля. Уравнение Хеккеля подразумевает деление процесса прессования на три стадии. На первой стадии прессования при низком уровне давления происходит перераспределение частиц до достижения пластической деформации, на второй стадии преобладает собственно пластическая

деформация, после чего при высоком уровне давления прессования начинается процесс фрагментации.

Степень уплотнения с увеличением давления прессования прямо пропорциональна значению пористости:

$$\frac{dD}{dP} = k \times \epsilon,$$

где D – относительная плотность брикета при налагаемом давлении P ; ϵ – пористость. Пористость находится как:

$$\epsilon = 1 - D,$$

после чего уравнение может быть преобразовано:

$$\frac{dD}{dP} = k \times (1 - D),$$

и после решения дифференциального уравнения:

$$\ln\left(\frac{1}{1 - D}\right) = k \times P + A,$$

На основе данного уравнения стоят график зависимости $\ln(1/(1 - D))$ от давления прессования. График описывает процессы, происходящие в таблеточной массе при наложении давления, а также механизм прессования (фрагментация или пластическая деформация) при таблетировании. Наклон линейного участка графика имеет высокие значения при пластической деформации в процессе прессования и низкие значения – при фрагментации. Обратное значение графика наклона k является оптимальным давлением прессования P , которое отражает способность материала к пластической деформации под давлением. Таким образом, низкие значения P указывают на начало пластической

деформации при низких давлениях. A – постоянная величина, характеризующая заполнение матрицы и перераспределение частиц в период до деформации и связывания частиц. Высокие значения A означают высокий уровень фрагментации.

Относительная плотность D_a рассчитывается уравнением:

$$D_a = 1 - e^{-a}$$

D_0 – относительная плотность в процессе фазы перераспределения при малых давлениях прессования представляет разницу между D_A и D_0 (относительная плотность порошка при отсутствии давления).

Уравнение Хеккеля показывает, что изгиб линии графика соотносится с началом эластичной деформации прессуемого материала, и тем самым указывает, что дальнейшее прессование не влияет на пластичную деформацию частиц, а также не влияет на образование новых связей между ними [3,6,7].

Уравнение Кавакиты. Сущность уравнения Кавакиты состоит в том, что частицы, подверженные давлению в ограниченном пространстве, являются системой, равновесной на всех стадиях прессования, поэтому полученный

продукт постоянен с точки зрения давления и объема. Уравнение Кавакиты характеризует способность порошков к уплотнению с использованием степени уменьшения в объеме C :

$$C = \frac{V_0 - V_p}{V_0} = \frac{a \times b \times P}{(1 + b \times P)},$$

Уравнение может быть преобразовано следующим образом:

$$\frac{P}{C} = \frac{P}{a} + \frac{1}{a \times b},$$

где V_0 – начальный объем порошка; V_p – объем порошка при давлении P .

На основе полученного уравнения строят линейный график зависимости P/C от P . Величина a характеризует степень уменьшения в объеме (уплотняемость) в процессе прессования, рассчитывается из графика зависимости P/C от P ; b – коэффициент уплотнения, характеризует пластические свойства материала. Его обратная величина $1/b$ – когезивность, характеризует степень сцепления частиц и определяет давление P_{kr} , необходимое для уменьшения в объеме порошка на 50%.

Таблица 1

ЗАВИСИМОСТЬ ХАРАКТЕРИСТИК ТАБЛЕТОК ОТ ДАВЛЕНИЯ ПРЕССОВАНИЯ

Давление прессования (P), МПа	Масса таблетки, г	Высота таблетки, см	Прочность на раздавливание, Н	Плотность брикета, г/см ³	Пористость (ε)	Ln (1/ε)
35,3677 ± 0,1	0,1008 ± 0,0010	0,308 ± 0,0058	12,7682 ± 0,2150	1,1574	0,1638	1,8088
88,4194 ± 0,1	0,1002 ± 0,0008	0,294 ± 0,0024	29,8710 ± 0,3739	1,2053	0,1292	2,0461
176,8388 ± 0,1	0,0996 ± 0,0007	0,268 ± 0,0020	48,5821 ± 0,1541	1,3144	0,0505	2,9861
265,2582 ± 0,1	0,1000 ± 0,0011	0,266 ± 0,0024	66,3517 ± 0,0826	1,3296	0,0395	3,2314
353,6776 ± 0,1	0,0998 ± 0,0010	0,264 ± 0,0024	76,6095 ± 0,1359	1,3370	0,0342	3,3766
530,5164 ± 0,1	0,0996 ± 0,0015	0,256 ± 0,0040	89,9073 ± 0,1784	1,3760	0,0060	5,1200
707,3553 ± 0,1	0,1014 ± 0,0007	0,260 ± 0,0034	95,8501 ± 0,2604	1,3793	0,0040	5,6321

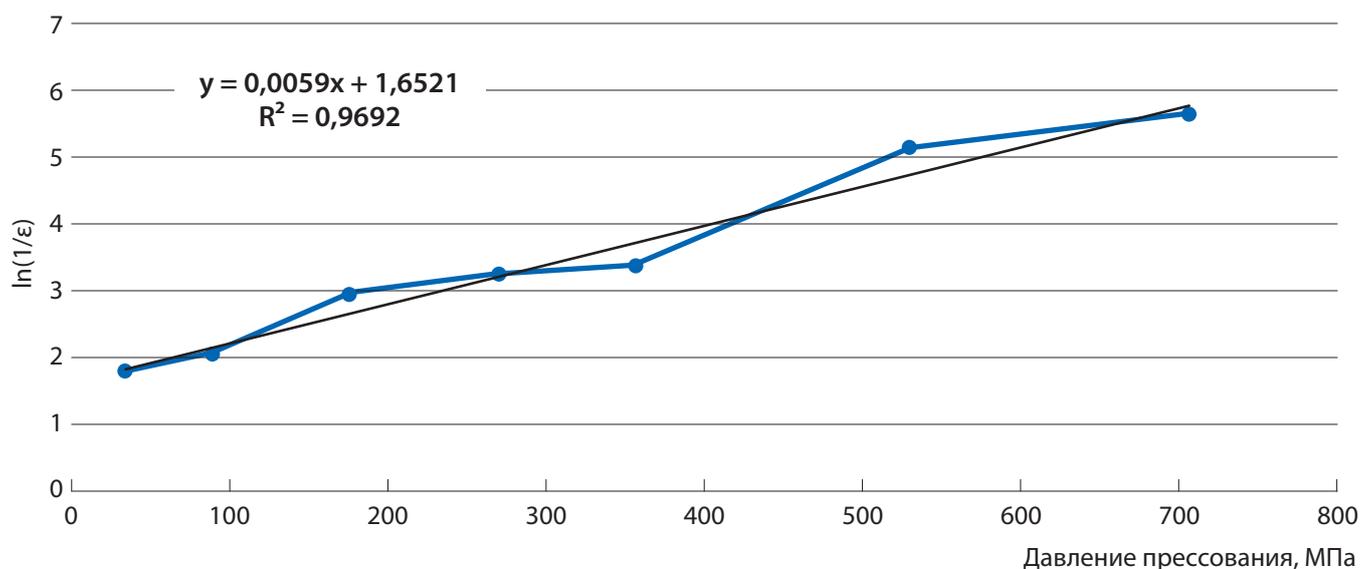


РИС. 1. Зависимость натурального логарифма пористости таблеток от давления прессования

Для пластичных материалов значение P_k обратно пропорционально степени пластической деформации в процессе уплотнения, следовательно, низкие значения P_k указывают на высокую степень пластической деформации, а также на возможность перераспределения частиц и заполнения пустот между ними [1,5,8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведения эксперимента установлено значение истинной плотности таблеточной массы, которое составило $1,3843 \text{ г/см}^3$, а также значение насыпной плотности, равное $0,2350 \text{ г/см}^3$. Составлена табл. 1, отражающая изменения массы, высоты и прочности таблеток относительно давления прессования. В процессе прессования накладывали

давления от 35,36 до 707,36 МПа, что соответствует $1\text{--}20 \text{ кН/м}^2$.

На основе полученных данных о пористости таблеток построен график зависимости натурального логарифма пористости $\ln(1/\epsilon)$ от давления прессования (рис. 1).

Методом наименьших квадратов проведена линейная аппроксимация, в результате чего уравнение $y = bx + a$ преобразовалось следующим образом: $y = (0,0059 \pm 0,0011)x + 1,6521 \pm \pm 0,4220$.

При значениях доверительной вероятности $p = 0,95$, количестве измерений – 7, коэффициенте Стьюдента вычислены абсолютные ошибки: для a – $\Delta a = \pm 0,4220$, для b – $\Delta b = \pm 0,0011$.

Согласно анализу полученных значений, в процессе прессования преобладает фрагментация, о чем свидетельствует достаточно высокое значение коэффициента A . Значение

Таблица 2

ЗНАЧЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТОВ УРАВНЕНИЯ КАВАКИТЫ

$A(a)$	$k(b)$	D_a	D_b	$1/k, P_k, \text{ МПа}$
$1,6521 \pm 0,4220$	$0,0059 \pm 0,0011$	0,8084	0,5734	$169,5 \pm 18,9$

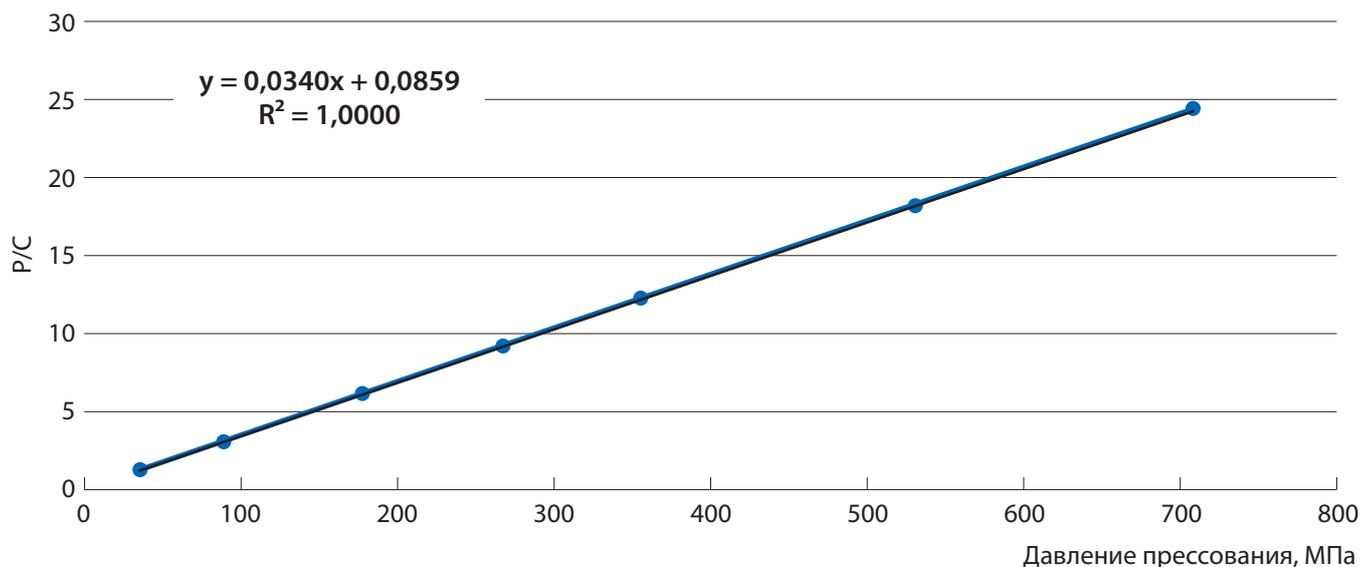


РИС. 2. Зависимость P/C таблеток от давления прессования

D_b меньше значения D_{ar} , что указывает на перераспределение частиц в процессе прессования.

Прямой участок графика расположен в диапазоне значений давления прессования от 88 до 176 МПа (2,5–5 кН/м²), а оптимальное значение давления прессования для получения таблеток ГСБ-106 составляет 169,5 МПа, что соответствует 4,8 кН/м².

Далее на основании полученных данных для уравнения Кавакиты построен график зависимости P/C от давления прессования (рис. 2).

Аналогичным образом проведена линейная аппроксимация, в результате чего получено уравнение $y = 0,0340x + 0,0859$ и вычислены абсолютные ошибки: для $a - \Delta a = \pm 0,0369$, для $b - \Delta b = \pm 0,0001$.

График зависимости Кавакиты характеризует поведение порошка как в насыпном объеме до уплотнения, так и в состоянии брикета.

Малое значение a свидетельствует о хорошей способности частиц к перераспределению (хорошая степень сыпучести гранулята), в то же время достаточно высокое значение $1/b$ показывает, что гранулы обладают хорошими когезивными свойствами. Давление, необходимое для уменьшения материала в объеме на 50%, составило 88,42 МПа, что соответствует 2,53 кН/м².

ВЫВОДЫ

С помощью математической модели Хеккеля описан процесс прессования таблеточной массы ГСБ-106. Определено оптимальное давление прессования для получения таблеток ГСБ-106, которое составило 169,5 МПа.

Уравнение Кавакиты показало, что полученная таблеточная масса обладает хорошими когезионными свойствами. Выявлено

Таблица 3

ЗНАЧЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТОВ УРАВНЕНИЯ КАВАКИТЫ

1/ab (a), МПа	1/a (b)	a	B	1/b, P _k МПа
0,0859 ± 0,0369	0,0340 ± 0,0001	29,50	0,3946	88,42 ± 7,39

давление, необходимое для уменьшения материала в объеме на 50%, которое составило 88,42 МПа.

Совместный анализ данных показал, что таблеточная смесь хорошо уплотняется при низком значении давления прессования, однако достигает полного уплотнения достаточно медленно.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Okunlola A., Odeku O.A. Evaluation of starches obtained from four *Dioscorea* species as binding agent in chloroquine phosphate tablet formulations // *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2011; 19(2): 95–105.
2. Tansel C. An overview of compaction equations // *Ankara: J.Fac. Pharm.*, 2007; 36(2): 123–133.
3. Михеева А.С., Блынская Е.В., Алексеев К.В. Применение математической модели Хеккеля для подбора оптимального диапазона давления прессования таблеток кемантана // *Фармация*, 2015; 8: 18–19.
4. Denny P.J. Compaction equations: a comparison of the Heckel and Kawakita equations // *Powder Technology*, 2002; 127: 162–172.
5. Hamid R.-S., Al-Akayleh F., Shubair M., Rashid I., Al-Remawi M., Badwan A. Evaluation of three chitin metal silicate co-precipitates as a potential multifunctional single excipient in tablet formulations // *Marine Drugs*, 2010; 8: 1699–1715.
6. Autamashih M., Isah A.B., Allagh T.S. Compressional characteristics and drug release profile of tablets of the crude leaves extract of *Vernonia galamensis* // *International Journal of Green Pharmacy*, 2011; 5(1): 34–38.
7. Карбушева Е.Ю., Блынская Е.В., Алексеев К.В. Оценка влияния давления прессования на технологические характеристики таблеток тропоксина, полученных методом влажного гранулирования. – М.: Сборник научных трудов по материалам XXVI Международной научно-практической конференции «Перспективы развития науки и образования», 2012: 64–65.
8. Majekodunmi S.O., Aliga U.L. Systematic Study on Flowability and Compressibility of *Symphonia globulifera* Stem Bark Powder for Tablet Dosage Form // *American Journal of Biomedical Engineering*, 2017; 7(1): 1–8.
9. Применение уравнения Куенца – Лойенбергера как прогностической модели процесса прямого прессования таблеток // Блынская Е.В., Маркеев В.Б., Алексеев К.В., Тишков С.В., Бueva В.В., Богунова И.В. // *Химико-фармацевтический журнал*. 2021. Т. 55. №6. С. 34–46.

USE OF THE HECKEL AND KAWAKITA EQUATIONS IN GSB-106 TABLETS TECHNOLOGY

V.V. Bueva, E.V. Blynskaya, K.V. Alekseev, C.V. Tishkov, S.V. Minaev

V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

Studies of compacting mechanisms were undertaken using the Heckel and Kawakita equations, which describes the process of tablet mass compacting. As a result the yield pressure and the pressure required to reduce the powder bed by 50% were obtained.

Keywords: GSB-106, cohesiveness, compaction, Heckel equation, Kawakita equation

УДК 615.1

<https://www.doi.org/10.34907/JRQAI.2022.74.43.007>

ИССЛЕДОВАНИЕ ОТНОШЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ К ВОПРОСУ САМОЛЕЧЕНИЯ СРЕДИ ПОДРОСТКОВ

А.А. Сеницына, ассистент кафедры фармации Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский университет), г. Москва

М.Н. Денисова, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармации Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский университет), г. Москва

Т.М. Литвинова, канд. фарм. наук, проректор по учебной работе ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский университет), заведующий кафедрой фармации Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский университет), г. Москва

Исследование, направленное на изучение взаимодействия сотрудников аптек с покупателями-подростками, было проведено с помощью дистанционного опроса методом анкетирования. В исследовании рассматривались потребности подростков при приобретении ЛП и поведенческие практики фармацевтов и провизоров при взаимодействии с подростками. В исследовании приняли участие 185 человек. Среди опрошенных 61,4% являются провизорами, 38,6% – фармацевтами. Большинство участников исследования имеют стаж более 10 лет (69,7%). Стаж 7–10 лет имеют 12,4% опрошенных, 4–6 лет – 7,6%, 1–3 года – 8,1%, менее 1 года – 2,2%. 37,3% опрошенных фармацевтических работников считают, что подросткам часто требуется консультирование при выборе лекарственного препарата. 33,5% респондентов указали, что чаще всего подросток может только описать проблему со здоровьем, 26,5% респондентов – что подростки практически всегда просят конкретный ЛП, еще 36,2% – что подросткам редко требуется консультация при выборе ЛП. Чаще всего участники исследования консультируют подростков по способу применения

и режиму дозирования препаратов (74,7%). По мнению опрошенных фармацевтических работников, на выбор лекарственных препаратов подростками при самолечении наибольшее влияние оказывают рекомендации родителей (60,3%). Участники опроса считают, что наиболее важным фактором для эффективного консультирования подростков является оценка информации с точки зрения подростка и помощь ему в ответственности за свое здоровье (68,5%). Говорить на понятном подростку языке считают важным 64,1% опрошенных. Опрос показал, что чаще всего подростки приобретали антигистаминные препараты (67%), также препараты, применяемые в дерматологии (58,4%), нестероидные противовоспалительные препараты (НПВС) (55,1%), препараты для лечения пищеварительного тракта (51,9%). По мнению респондентов, на выбор лекарственных препаратов подростками при самолечении наибольшее влияние оказывают рекомендации родителей (60,3%), значимы советы знакомых (45,7%) и цена препарата (41,3%). Прежде чем отпустить ЛП, стараются максимально расспросить о потребностях подростков

52,5% опрошенных. Рекомендуют подросткам обратиться за консультацией к врачу 45,4% респондентов, оценивают необходимость приобретения лекарственного препарата подростком – 35,5%.

Ключевые слова: фармацевтическое консультирование, фармацевтический работник, подростковая группа населения, концепция ответственного самолечения, безрецептурные лекарственные препараты

Подростки, возрастная категория от 10 до 19 лет, согласно действующему законодательству, имеют возможность приобрести любой безрецептурный лекарственный препарат, не прибегая к консультации врача или совету родственников. На долю возрастной группы 10–24 лет приходится более 25% жителей Земли, что составляет около 1,8 млрд человек. [7]

Концепция ответственного самолечения, подразумевающая разумное применение самими пациентами лекарственных средств с высоким профилем безопасности, находящихся в свободной продаже, с целью профилактики или лечения легких недомоганий до оказания профессиональной врачебной помощи, позволяет людям не только получить быстрый доступ к необходимым лекарствам, но и снизить нагрузку на сферу здравоохранения. Единственный квалифицированный собеседник потребителя в таком случае – фармацевтический работник.

Распространенность обращения к самолечению среди подростков в разных странах варьируется от 2% до 92% [6]. Анкетирование, проведенное среди школьников старших классов Москвы, показало, что 72% [8] респондентов покупают лекарственные препараты (ЛП) самостоятельно, без сопровождения взрослых. При этом совершали покупку без рекомендаций и предписаний врача 65% подростков.

Обзорное исследование показало [6], что наиболее распространенными среди подростков препаратами при самолечении являются анальгетики и антигистаминные препараты, лекарственные препараты, снимающие симптомы гриппа и простуды, а также витамины. Самые распространенные жалобы на здоровье, приводящие к самолечению, включают головную боль, аллергию и лихорадку [6].

Часто подростки не понимают информацию, указанную на этикетке или в инструкции к лекарственному препарату, низкая медикоментозная грамотность является фактором риска в концепции ответственного самолечения подростков: люди с низкой медицинской грамотностью часто совершают ошибки при самолечении [1,5]. Повышение медикоментозной грамотности может научить человека правильному использованию лекарственных препаратов. Исследования показали, что образовательные программы по правильному применению лекарств могут улучшить знания о лекарствах среди подростков [2,3].

Исследование «In appropriate self-medication among adolescents and its association with lower medication literacy and substance use» показало, что фармацевтические работники являются основным источником информации при самолечении у подростков, поскольку имеют профессиональные возможности для предоставления индивидуальных и обоснованных рекомендаций по правильному использованию лекарств. Было рекомендовано стимулировать фармацевтических работников к более активной роли, помогая потребителям делать осознанный выбор, особенно для подростков и потребителей с низкой грамотностью в отношении здоровья [4].

МЕТОДЫ

Проведено социологическое исследование методом опроса (анкетирование) с использо-



РИС. 1. Востребованность среди подростков фармацевтического консультирования при выборе лекарственного препарата (одиночный выбор)

ванием сервиса Google Forms. Анкета состоит из 9 вопросов закрытого типа. Репрезентативность выборки была рассчитана статистическим методом.

В исследовании проанализировано взаимодействие сотрудников аптек с покупателями-подростками.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди опрошенных 61,4% являются провизорами, 38,6% – фармацевтами. Большинство участников исследования имеют стаж более 10 лет (69,7%). Стаж 7–10 лет имеют 12,4% опрошенных, 4–6 лет – 7,6%, 1–3 года – 8,1%,

менее 1 года – 2,2%. В сумме 37,3% сотрудников аптек указали, что подросткам часто требуется консультирование при выборе лекарственного препарата. Чаще всего подросток может только описать проблему со здоровьем, считают 33,5% респондентов, 26,5% респондентов указали, что подростки практически всегда просят конкретный ЛП, 36,2% указали, что подросткам редко требуется консультация при выборе ЛП (рис. 1). В основном участники исследования консультируют подростков по способу применения и режиму дозирования препаратов (74,7%).

По выбору лекарственных препаратов консультируют подростков 64,8% опрошенных (рис. 2). Также респонденты часто кон-

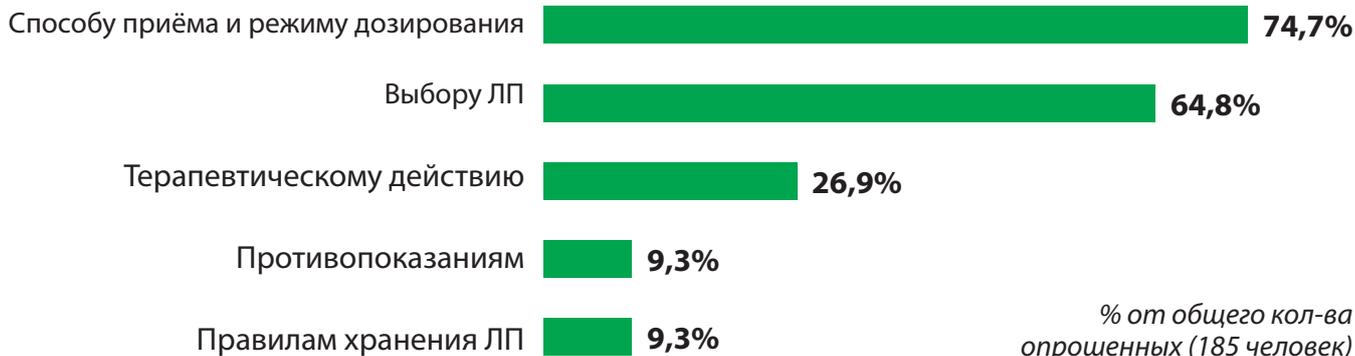


РИС. 2. Основные причины консультирования подростков (множественный выбор)



РИС. 3. Наиболее важные факторы для эффективного фармацевтического консультирования подростков (множественный выбор)



РИС. 4. Лекарственные препараты, приобретаемые подростками самостоятельно за последний месяц (множественный выбор)



РИС. 5. Факторы, оказывающие влияние на выбор ЛП подростком при самолечении (множественный выбор)

сультируют подростков по терапевтическому действию ЛП (26,9%). Реже всего подросткам необходимы консультации по противопоказаниям (9,3%) и правилам хранения ЛП (9,3%).

Участники опроса считают, что наиболее важным фактором для эффективного консультирования подростков является оценка информации с точки зрения подростка и помощь ему в ответственности за свое здоровье (68,5%). Общаться на понятном подростку языке считают необходимым 64,1% опрошенных. На третьем месте – четко сформулированные ответы при общении с подростком (54,9%). Считают важным не давать личной оценки при консультировании 21,7% опрошенных, достижение взаиморасположения – 19,6%. Отметили важность использования различных форм подачи информации для лучшего

восприятия (плакаты, брошюры) 18,5% участников опроса (рис. 3).

Опрос показал, что чаще всего за последний месяц исследования подростки приобретали антигистаминные препараты (67%). Востребованы лекарственные препараты, применяемые в дерматологии (58,4%), нестероидные противовоспалительные средства (55,1%), препараты для лечения пищеварительного тракта (51,9%). Прочие лекарственные препараты приобретали 37,8% опрошенных, иммуномодуляторы – 26,5%, препараты для лечения заболеваний мочеполовой системы – 17,3%, дыхательной системы – 17,3%. Остальные группы препаратов являются менее востребованными (рис. 4).

По мнению фармацевтов и провизоров, на выбор лекарственных препаратов под-

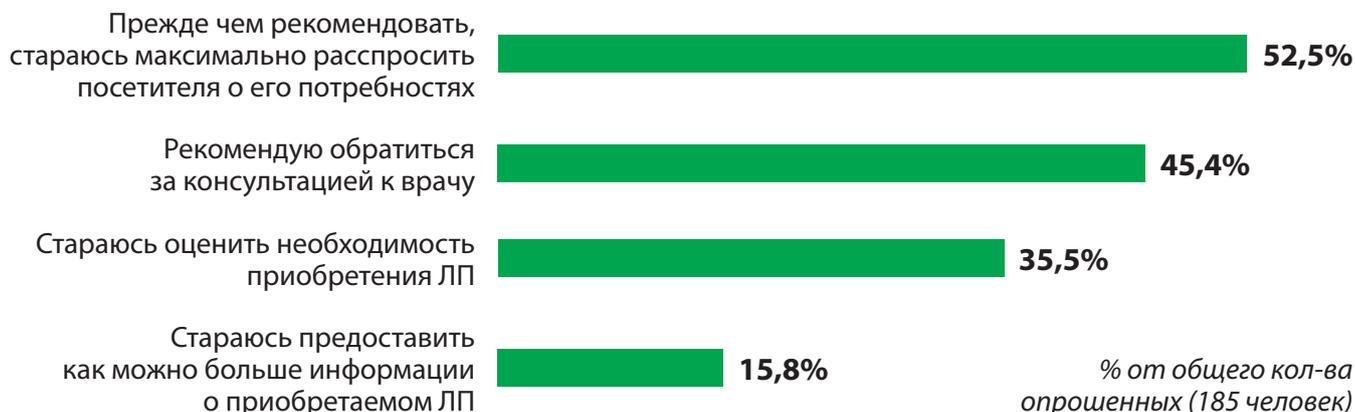


РИС. 6. Основные отличия консультирования подростков (множественный выбор)

ростками при самолечении наибольшее влияние оказывают рекомендации родителей (60,3%). Для подростков значимы советы знакомых (45,7%), цена препарата (41,3%), рекомендации врача (39,7%) и советы фармацевтического работника (32,6%). Наименее значимо собственное мнение (11,4%) (рис. 5).

Участники указали следующие отличия консультирования подростков. Прежде чем рекомендовать, стараются максимально расспросить о потребностях подростков 52,5% опрошенных. Рекомендуют подросткам обратиться за консультацией к врачу 45,4% респондентов. Оценивают необходимость приобретения лекарственного препарата подростком 35,5%. Стараются предоставить как можно больше информации о приобретаемом лекарственном препарате 15,8% (рис. 6).

ВЫВОДЫ

Исследование показало, что подросткам требуется консультирование при выборе лекарственного препарата. Наиболее часто участники исследования консультируют подростков по способу применения и режиму дозирования препаратов. По мнению опрошенных фармацевтических работников, на выбор лекарственных препаратов подростками при самолечении наибольшее влияние оказывают рекомендации родителей. Фармацевтические работники считают, что наиболее важным фактором для эффективного консультирования является оценка информации с точки зрения самого подростка. Опрос показал, что чаще всего подростки приобретали антигистаминные лекарственные препараты, препараты, применяемые в дерматологии, НПВС, препараты для лечения пищеварительного тракта. Большинство респондентов, прежде чем рекомендовать лекарственный препарат подростку, стараются максимально

расспросить о потребностях и рекомендуют подросткам обратиться за консультацией к врачу.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Berkman N.D., Sheridan S.L., Donahue K.E., Halpern D.J., Crotty K. *Low health literacy and health outcomes: an updated systematic review* // *Ann. Intern. Med.* – 2011. – 155 (2): 97–107.
2. Chang F.C., Chi H.Y., Huang L.J., Lee C.H., Yang J.L., Yeh M.K. *Developing school-pharmacist partnerships to enhance correct medication use and pain medication literacy in Taiwan.* // *Journal of the American Pharmacists Association: JAPhA.* – 2015.
3. Chi H.Y., Chang F.C., Lin H.J., Huang L.J., Chang J.C., Yeh M.K., et al. *Evaluation of a health-promoting school program to enhance correct medication use in Taiwan* // *Journal of Food and Drug Analysis.* – 2014.
4. Chun-Hsien Lee, Fong-Ching Chang, Sheng-Der Hsu, Hsueh-Yun Chi, Li-Jung Huang, Ming-Kung Yeh. *Inappropriate self-medication among adolescents and its association with lower medication literacy and substance use.*
5. Ngoh L.N. *Health literacy: a barrier to pharmacist-patient communication and medication adherence* // *Journal of the American Pharmacists Association: JAPhA.* – 2009.
6. Shehnaz S.I., Agarwal A. K, Khan N. *A systematic review of self-medication practices among adolescents* // *J. Adolesc. Health.* – 2014; – 55(4): 467–483.
7. URL: https://www.who.int/maternal_child_adolescent/adolescence/universal-health-coverage/en/ (дата обращения 06.04.2022).
8. Журавлева И.В., Лакомова Н.В. *Социальная обусловленность здоровья подростков во временном аспекте* // *Социологическая наука и социальная практика.* – 2019. – Т. 7. – №2(26). – С. 132-152.

THE STUDY OF THE ATTITUDE OF PHARMACEUTICAL WORKERS TO THE ISSUE OF SELF-MEDICATION AMONG ADOLESCENTS

A.A. Sinitsyna, M.N. Denisova, T.M. Litvinova

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

The study aimed at studying the interaction of pharmacy employees with teenage customers was conducted using a remote survey, a questionnaire method. The study examined the needs of adolescents when purchasing medicines and behavioral practices of pharmacists when interacting with adolescents. 185 people participated in the study. The majority of the study participants have more than 10 years of experience (69.7%), 12.4% of respondents have 7–10 years of experience, 4–6 years – 7.6%, 1–3 years – 8.1%, less than 1 year – 2.2%. 37.3% of pharmaceutical workers surveyed believe that adolescents often need counseling when choosing a drug. 33.5% of respondents indicated that most often a teenager can only describe a health problem, 26.5% of respondents – teenagers almost always ask for a specific drug, another 36.2% – teenagers rarely need advice when choosing a drug. Most often, the study participants consult adolescents on the method of application and dosage regimen of drugs (74.7%). According to the surveyed pharmaceutical workers, the recommendations of parents have the greatest influence on the choice of medicines by adolescents during self-treatment (60.3%). The survey participants believe that the most important factor for effective counseling of adolescents is the assessment of information from the point of view of a teenager and helping him to take responsibility for his health (68.5%). 64.1% of respondents consider it important to speak a language understandable to a teenager. The survey showed that adolescents most often purchased antihistamines (67%), also drugs used in dermatology (58.4%), nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (55.1%), drugs for the treatment of the digestive tract (51.9%). According to respondents, the choice of medications by adolescents during self-treatment is most influenced by the recommendations of parents (60.3%), the advice of acquaintances (45.7%) and the price of the drug (41.3%). Before releasing the drug, 52.5% of respondents try to ask as much as possible about the needs of adolescents. 45.4% of respondents recommend teenagers to consult a doctor, 35.5% assess the need for a teenager to purchase a drug.

Keywords: pharmaceutical consulting, pharmaceutical worker, adolescent population group, the concept of responsible self-medication, over-the-counter medications.

УДК 615.2

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.94.43.008>

ПЕРСПЕКТИВЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ВИДОВ РОДА АРАЛИЯ (*ARALIA SSP.*)

Д.А. Некрасова, аспирант, младший научный сотрудник кафедры биохимии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, nekrasova.darya@pharminnotech.com

М.Н. Пovyдыш, доктор биол. наук, профессор кафедры фармакогнозии, заведующая кафедрой биохимии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, maria.povydysh@pharminnotech.com

Н.С. Пивоварова, канд. фарм. наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, nadezhda.pivovarova@pharminnotech.com

М.Ю. Гончаров, доктор биол. наук, доцент кафедры фармакогнозии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, mikhail.goncharov@pharminnotech.com

В данной статье обобщена информация о характеристике, охранном статусе, способах введения в культуру *in vitro* представителей рода *Aralia L.*, описаны накапливаемые культурами клеток вторичные метаболиты.

Ключевые слова: аралиевые, *Araliaceae*, культура *in vitro*, *Aralia ssp.*

Аралиевые (*Araliaceae*) – семейство двудольных растений, распространенных главным образом в тропическом и субтропическом климате. Данное семейство насчитывает порядка 850 видов, относящихся более чем к 70 родам. Большинство аралиевых – деревья или кустарники, реже – полукустарники и многолетние травы [1].

Представители семейства известны в качестве лекарственных растений, препараты которых оказывают стимулирующее влияние на центральную нервную систему (ЦНС), обладают адаптогенными свойствами, в частности, данное утверждение справедливо для лекар-

ственных препаратов женьшеня (*Panax ginseng* C.A. Mey), элеутерококка (*Eleutherococcus senticosus* (Maxim. & Rupr.) Maxim.), заманихи (*Oplopanax elatus* Nakai), аралии (*Aralia mandshurica* Rupr. & Maxim.) [2,3]. Однако известны и другие, не менее ценные виды активности указанных лекарственных средств: противовоспалительная [4], гипогликемическая [5,6], гепатопротекторная [7,8], цитотоксическая [9] и др. [10].

Своими фармакологическими свойствами указанные растения обязаны тритерпеноидам – многочисленному классу природных соединений, структурным основоположником которых является сквален. Наибольший интерес представляют производные пентациклического β-амирина и тетрациклического II-даммарендиола, свойственные растениям рода *Aralia ssp.* и *Panax ssp.* [11].

Совокупность ценных для человека видов активности, ограниченность естественного ареала и сложность культивирования сделали растения семейства *Araliaceae*

потенциальными объектами для введения в культуру *in vitro*.

Грамотный подход к культурам растительных клеток и тканей позволяет вести работы по получению биологически активных веществ (БАВ) в течение всего года и вне зависимости от природных условий, а контроль условий выращивания позволяет увеличить выход вторичных метаболитов [12].

Долгое время считалось, что накопление вторичных метаболитов в культурах клеток – процесс больше исключительный, чем закономерный, что было связано с поисками конкретных, фармацевтически ценных, соединений, синтез которых в данных биологических системах мог быть затруднен. В настоящее время в связи с расширением спектра детальных фитохимических исследований было выяснено, что синтез вторичных метаболитов осуществляется и культурами клеток, однако имеет свои характерные особенности, связанные с непрерывной пролиферативной активностью и дедифференцированным состоянием клеток [13].

Первоначальные работы по получению и исследованию культур клеток семейства аралиевых проводились в середине прошлого столетия: были получены первые каллусные и суспензионные культуры растений рода *Polyscias* ssp. и *Panax* ssp. В настоящее время получены и успешно культивируются десятки представителей обоих родов [14, 15].

Фитохимические исследования клеточных культур женьшеня позволили определить в их составе нейтральные гинзенозиды Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rb2, Rd – основные тритерпеновые сапонины корня женьшеня настоящего (*Panax ginseng* C.A. Mey) [16]. Также было показано, что культура *P. japonicus* в значительном количестве накапливает гинзенозид R₀ [17].

Работы по фитохимическому изучению клеточных культур различных видов рода полисциас (*Polyscias* ssp.) позволили обнаружить тритерпеновые гликозиды, идентифицированные

как Pol 1, Pol 3, Pol 5, Pol 7. Дополнительно были проведены исследования влияния добавления предшественника синтеза изопреноидов на конечный выход вторичных метаболитов *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. Установлено, что это увеличивает количество тритерпеноидных гликозидов в культурах и оказывает положительное влияние на ростовые характеристики культуры [18].

РОД АРАЛИЯ: ЕГО ОБЪЕМ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ОХРАННЫЙ СТАТУС

Род *Aralia* включает 71 вид и является пятым по величине среди всех родов семейства. Филогенетические исследования показывают, что род *Aralia* эволюционно наиболее близок к родам *Panax*, *Polyscias* и *Pseudopanax* [19].

Представители рода распространены главным образом в Восточной и Юго-Восточной Азии (57 из 71 вида) и только 14 видов приходятся на Северную и Южную Америку. Первые упоминания о растениях данного рода датированы XVII веком, а некоторые виды были завезены и культивированы в Европе в 1600–1700-х годах, при этом первыми культивируемыми видами были *Aralia elata* (Miq), *Aralia cordata* Thunb., *Aralia cachemirica* Decne, *Aralia stipulata* Franch.

Виды *Aralia* ssp. – это многолетние травы, кустарники или листопадные деревья. Подземная сфера представляет собой корневища или хорошо развитые корни. Листья очень крупные, непарноперистосложные, часто дважды- и триждыперистые. Цветки мелкие, пятичленные, собраны в зонтики, образующие сложные метельчатые соцветия. Форма и цвет плодов-костянок сильно варьируют от вида к виду [20].

В России ареал произрастания затрагивает азиатскую часть страны, Дальний Восток: острова Сахалин, Кунашир, Шикотан, Итуруп, Приморский край, юг Хабаровского края,

Амурскую область. Произрастающие на данных территориях виды аралии (*A. continentalis*, *A. cordata*) относятся к исчезающим и занесены в Красную книгу России, исключение составляет *A. elata*, относящаяся к категории видов с наименьшим риском [21,22].

Угрожающий статус видов аралии может быть связан с периодом морфофизиологического покоя, необходимого для семян, и недоразвитостью зародыша, что является лимитирующим фактором для восстановления естественной популяции растений. Для успешного выведения семян из состояния покоя требуется длительный период стратификации с чередованием температурного режима, что также не обеспечивает их стопроцентной всхожести [21].

КУЛЬТУРЫ КЛЕТOK ARALIA SSP: ПОЛУЧЕНИЕ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ, ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ

Работы по *in vitro* культивированию аралии высокой (*Aralia elata* Rupr. et Maxim.).

Большое значение видов рода аралия для восточной традиционной медицины сделало их потенциальными объектами для введения в культуру *in vitro* [23–25]. Подавляющее большинство работ в области клеточных технологий посвящено *Aralia elata* Rupr. – виду, который издавна использовался в традиционной медицине Азии для лечения кашля, рака, диабета, ревматоидного артрита, язвы желудка и гепатита [24,26–28].

В работе, посвященной получению каллусной культуры аралии высокой и последующей регенерации полноценного растения, Karim M.Z. с соавт. (2007) в качестве первичного экспланта использовали черенки и листья интактного растения, предварительно простерилизованные в спирте этиловом 70% и гипохлорите натрия 3% с добавлением твина-80. Экспланты высаживали

на среде Мурасиге – Скуга (МС) и Broad-leaved tree medium (BT) без или с добавлением фитогормонов. Было показано, что наибольшее число каллусов получалось из черенков на среде МС с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в количестве 5 мг/л, интенсивное образование побегов наблюдали из каллусной культуры листа на среде BT без добавления фитогормонов, активный ризогенез был индуцирован из каллусной культуры листа на среде BT с добавлением 2 мг/л α -нафтилуксусной кислоты (НУК) [29].

J.M. Li с соавт. (2001) исследовали индукцию соматического эмбриогенеза каллусных культур *Aralia elata* Rupr. et Maxim. Каллус получали из молодых побегов аралии на среде МС с добавлением 0,5 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП) и 0,5 мг/л α -нафтилуксусной кислоты (НУК). Культуры пересаживали на среду МС, содержащую 2 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП, 0,5 мг/л НУК и 0,2% активированного угля для индукции соматического эмбриогенеза. В результате эксперимента ученым удалось получить растения-регенеранты [30].

Dai J.-L. с соавт. (2011) изучали быстрый способ регенерации аралии маньчжурской при помощи соматического эмбриогенеза. В качестве первичных эксплантов ученые использовали листья, черешки и сегменты корня. Части растения культивировали в течение пяти недель на среде Шенка – Хильдебранта с добавлением различных концентраций индолил-3-масляной кислоты (ИМК) для индукции соматического эмбриогенеза. Исследователями отмечено, что в ста процентах случаев индукция процесса происходила на среде с концентрацией ИМК 2 мг/л, 3 мг/л и 0,3 мг/л. Кроме того, учеными было отмечено наличие вторичного соматического эмбриогенеза и изучены условия, при котором данный процесс является наиболее эффективным. В ходе работы первичные эмбрионы культивировали на средах с различной концентрацией ИМК, АБК и сахарозы. Установлено, что ИМК

наиболее благотворно влияла на процесс вторичного соматического эмбриогенеза, чем АБК. Кроме того, наилучший рост и развитие эмбрионов отмечено на средах с пониженным содержанием сахарозы (10–20 г/л) [31].

Авторами подмечено, что использование в качестве индуцирующего агента ауксина 2,4-Д является менее эффективным подходом по сравнению с рассматриваемым, поскольку в первом случае процесс эмбриогенеза занимает больше времени [31,32].

Yue Sui с соавт. (2022) изучали динамику накопления олеаноловой кислоты и флавоноидов в культуре гормональных автотрофных клеток аралии высокой. Было показано, что наилучший рост культуры наблюдается на жидкой среде МС с добавлением 70 г/л сахарозы, а наибольший выход олеаноловой кислоты отмечали при обработке культур метилжасмонатом в количестве 250 мкмоль/л в течение шести дней или при добавлении салициловой кислоты в концентрации 25 мг/л в течение трех дней, что позволило увеличить эффективность выхода кислоты в 1,597 и 3,59 раза по сравнению с контролем. Рекордное количество флавоноидов накапливалось в культурах при их обработке ацетатом натрия в количестве 50 мг/л в течение 14 дней, что в 2,37 раза превышало эффективность накопления целевой группы биологически активных веществ по сравнению с контролем. Оптимальная концентрация обоих прекурсоров в среде была определена в количестве 5 мг/л для ацетата натрия и 25 мг/л для салициловой кислоты, что повышало уровень выхода как флавоноидов, так и олеаноловой кислоты [33].

Изучение культур *in vitro* аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.). Другим объектом культуральных исследований является *Aralia cordata* Thunb. [34], что связано с широким спектром биологической активности и богатым опытом применения аралии в восточной медицине [25,28]. В эксперименте вторичные метаболиты аралии сердцевидной

оказывают обезболивающее [35], хондропротекторное [36], противовоспалительное и иммуномодулирующее [4], противомикробное [37] и др. действие [38].

Nagashima S. с соавт. (2004) использовали клеточную культуру аралии сердцевидной в качестве источника фермента антоцианин-3-О-галактозилтрансферазы для последующего доказательства его активности. Каллус аралии получали из побегов и листьев на среде Мурасиге – Скуга с добавлением 1 мг/л 2,4-Д, 0,1 мг/л кинетина и 70 мл кокосовой воды. Клетки каллуса были использованы в работе для получения суспензионной культуры, из ДНК которой секвенировали аминокислотную последовательность антоцианин-3-О-галактозилтрансферазы. Ген, ответственный за кодирование исследуемого фермента, переносили с помощью вектора в *E.coli*, что позволило доказать, что фермент способствует именно 3-О-галактозилрованию флавоноидов [39].

Sakamoto K. с соавт. (1993) и Asada Y. с соавт. (1994) изучали компонентный состав антоцианов, накапливаемых каллусными культурами *A. cordata*. Были установлены структуры цианидин-3-ксилозилгалактозида и пионидин-3-ксилозилгалактозида (табл. 1) [40,41]. Кроме того, исследователи установили, что влияние света, высокий уровень сахарозы или низкий уровень нитратов в питательной среде усиливают процессы метилирования цианидин-3-ксилозилгалактозида, что приводит к увеличению продукции пионидин-3-ксилозилгалактозида.

Lee K.-S. с соавт. исследовали возможность регенерации аралии сердцевидной из культур клеток. Эмбриогенный каллус получали из молодых соцветий, культивируя первичные экспланты на среде МС с добавлением 6,8 мкмоль/л 2,4-Д. Эмбриогенные скопления клеток пересаживали каждые две недели, а затем поддерживали в жидкой среде МС с добавлением 4,5 мкмоль/л 2,4-Д и 3% сахарозы. Следующим этапом являлась синхронизация

Таблица 1

ФОРМУЛЫ АНТОЦИАНОВ, НАКАПЛИВАЕМЫЕ КАЛЛУСАМИ *ARALIA CORDATA*

Название	Формула	Лит. ист.
Цианидин-3-ксилозилгалактозид		[40]
Пионидин-3-ксилозилгалактозид		[41]

соматического эмбриогенеза, которая заключалась во фракционировании эмбрионов на разных стадиях развития с последующим культивированием глобулярных или сердцевидных зародышей на среде с разной концентрацией абсцизовой кислоты для формирования семядольных зародышей. Семядольные зародыши пересаживали в чашки Петри с агаризованной средой МС без фитогормонов.

Было показано, что наибольший выход (60,7%) растений-регенерантов наблюдался при «созревании» сердцевидных зародышей на среде с концентрацией абсцизовой кислоты 3,8 мкмоль/л [42–44].

Использование клеточных технологий для введения в культуру других видов аралий. Xiao-Xia Y.A. N. G с соавт. (2005) изучали условия индукции каллусогенеза, увеличения

биомассы и ризогенеза клеточных культур *Aralia thomsnii*. Образование каллуса наблюдали на среде МС с добавлением 0,18 мг/л 6-БАП и 0,4 мг/л ИМК, активное увеличение массы клеток было отмечено на среде МС с концентрацией 6-БАП 1,2 мг/л и ИМК 0,5 мг/л, образование многочисленных корней фиксировали на среде 1/2МС + 3 мг/л ИМК [45].

Yang L. X с соавт. (2011) исследовали условия получения каллуса аралии материковой (*Aralia continentalis* Kitag.) и возможность регенерации полноценного растения с использованием клеточных технологий. В качестве первичного экспланта использовали пазушные почки интактного растения. Было установлено, что оптимальной для индукции каллуса является среда Мурасиге – Скуга, содержащая 1,5 мг/л 6-БАП и 1,0 мг/л 2,4-Д, выход каллусных культур при данных условиях составил 100%. Образование адвентивных побегов наблюдалось на среде МС с концентрацией 2,0 мг/л 6-БАП и 0,2 мг/л НУК, эффективность дифференциации при описываемых условиях достигала 90%. Наилучшие показатели по корнеобразованию показали образцы, культивируемые на среде 1/2 МС с добавлением 0,02 мг/л НУК или 0,5 мг/л ИМК, укореняемость аралии составила 100% [46].

ВЫВОДЫ

Представители семейства аралиевых (*Araliaceae*) известны своими адаптогенными свойствами и имеют большое значение для традиционной восточной медицины. Совокупность ценных для человека видов фармакологической активности и трудоемкость культивирования указанных растений традиционными способами сделали их потенциальными объектами для введения в культуру *in vitro*. В настоящее время успешно культивируются каллусные и суспензионные культуры разных видов женьшеня и полисициаса,

установлены химические структуры основных вторичных метаболитов, накапливаемых культурами клеток.

Виды рода *Aralia* также имеют многолетний опыт использования в медицине. Данные растения представляют большой интерес для изучения с точки зрения клеточных технологий, что связано со сравнительно небольшим опытом введения представителей рода в культуру *in vitro*. Кроме того, на сегодняшний день не имеется достаточного количества информации о накоплении в культурах аралий основного класса биологически активных веществ – тритерпеноидов, что также открывает большие возможности для дальнейших исследований.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Буданцев А.А. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Сем. Fabaceae – Apiaceae. – СПб., М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 602 с.
2. Hackney A.C. Pharmacologic and Nutritional Substances to Enhance Performance or Produce Weight Loss // Exercise, Sport, and Bioanalytical Chemistry. 2016. P. 83–96.
3. Martinez B., Staba E.J. The physiological effects of *Aralia*, *Panax* and *Eleutherococcus* on exercised rats // Jpn.J. Pharmacol. – 1984; 35: 79–85.
4. Ji E.H., Kim D.S., Sim S.J., Park G.H., Song J.H., Jeong J.B., Kim N. Anti-inflammatory Effect of Leaves Extracts from *Aralia cordata* through Inhibition of NF-κB and MAPKs Signaling in LPS-stimulated RAW264.7 Cells // The Plant Resources Society of Korea. 2018. Vol. 31. №6. P. 634–640.
5. Niu H.S., Liu I.M., Cheng J.T., Lin C.L., Hsu F.L. Hypoglycemic effect of syringin from *Eleutherococcus senticosus* in streptozotocin-induced diabetic rats // Planta Med. 2008. Vol. 74. №2. P. 109–113.

6. Luyen N.T., Dang N.H., Binh P.T. X., Hai N.T., Dat N.T. Hypoglycemic property of triterpenoid saponin PFS isolated from *Polyscias fruticosa* leaves // *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*. 2018. Vol. 90. №3, P. 2881–2886.
7. Hwang K.A., Hwang Y.J., Kim G.R. et al. Extracts from *Aralia elata* (Miq) Seem alleviate hepatosteatosis via improving hepatic insulin sensitivity // *BMC Complement. Altern. Med.* 2015. Vol. 347. №15. P. 1–9.
8. Saito S., Ebashi J., Sumita S., Furumoto T., Nagamura Y., Nishida K., Isiguro I. Comparison of cytoprotective effects of saponins isolated from leaves of *Aralia elata* Seem. (Araliaceae) with synthesized bisdesmosides of oleanoic acid and hederagenin on carbon tetrachloride-induced hepatic injury // *Chem. Pharm. Bull.* 1993. Vol. 41. №8. P. 1395–1401.
9. Lee J.-H. Suppression of cellular adhesion and the anticancer activity of *Aralia elata* extract // *Food Science and Technology*. 2022. V. 42. P. 1–7.
10. Shikov A.N., Narkevich I.A., Akatova A.V., Nemyatykh O.D., Flisyuk E.V., Luzhanin V.G., Povydsh M.N., Mikhailova I.V., Pozharitskaya O.N. Medical Species Used in Russia for the Management of Diabetes and Related Disorders // *Frontiers in Pharmacology*. 2021. №12. P. 1–40.
11. Гришковец В.И., Чирва В.Я., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: методы выделения и установления структуры // *Биология растений и садоводство: теория, инновации*. 2007. №127. С. 97–107.
12. Носов А.М. Культура клеток высших растений – уникальная система, модель, инструмент // *Физиология растений*. 1999. №6. С. 837–844.
13. Томилова С.В., Киташов А.В., Носов А.М. Сердечные гликозиды: распространение, свойства и специфика образования в культурах клеток и органов растений *in vitro* // *Физиология растений*. 2022. Т. 69. №3. С. 227–245.
14. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
15. Суханова Е.С. Всероссийская коллекция культур клеток высших растений ИФР РАН (УНУ ВККК ВР) / Е.С. Суханова, И.Е. Куличенко, Г.И. Соболюкова // *Биология клеток растений in vitro и биотехнология: тезисы докладов XI Международной конференции, которая знаменует полувековую историю по исследованию культивируемых in vitro клеток высших растений и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*, Минск, 23–27 сентября 2018 года. – Минск: Медисонт, 2018. С. 230–231.
16. Wu J. Production of ginseng and its bioactive components in plant cell culture: Current technological and applied aspects // *Journal of Biotechnology*. 1999. №68. P. 89–99.
17. Кочкин Д.В., Носов А.М. Кислые эфиры гинзенозидов в суспензионной культуре клеток *Panax japonicus* var. *repens* // *Вестник МарГТУ, Серия «Лес. Экология. Природопользование»*. 2011. №3. С. 61–71.
18. Кочкин Д.В., Суханова Е.С., Носов А.М. Тритерпеновые гликозиды в культуре клеток *Polyscias fruticosa* (L.) Harms // *Материалы международной конференции «Перспективы фитобиотехнологии для улучшения качества жизни на Севере»*. – Якутск: ИПК СВФУ. 2010. С. 101–104.
19. Liu W., Guo W., Chen S., Xu H., Zhao Y., Chen S., You X. A High-Quality Reference Genome Sequence and Genetic Transformation System of *Aralia elata* // *Front. Plant. Sci.* 2022. P. 1–11.
20. Wen J. Systematics and Biogeography of *Aralia* L. (Araliaceae): Revision of *Aralia* Sects. *Aralia*, *Humiles*, *Nanae*, and *Sciadodendron* // *Contributions from the United States National Herbarium*. 2011. №57. P. 1–17.

21. Журавлев Ю.Н., Воронкова Н.М., Баркалов В.Ю., Воронков А.А. Лекарственные растения Курильских островов. – Владивосток: Дальнаука, 2004. – 306 с.
22. Красная книга России. [Электронный ресурс]. URL: <https://redbookrf.ru/?s=%D0%B0%D1%80%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D1%8F> (дата обращения: 16.10.2022).
23. Nie F., Zhang M.P., Sun C.Y., Jiang S.C., Wang Y. *Advances in Studies on Plant Cell Engineering of Araliaceae [J]* // *Northern Horticulture*. 2010. №7.
24. Cheng Y., Li G.-Y., Xia G.-H., Huang S.-J., Huang Y.-F. *Review on tissue culture of Aralia plants [J]* // *Journal of Zhejiang A&F University*. 2011. Vol. 28. №6. P. 968–972.
25. Xu Y., Liu J., Zeng Y., Liu W., Li Z., Qin X., Bai Y. *Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of medicinal genus Aralia: A review* // *J. Ethnopharmacol.* – 2022; 284: 1–32.
26. Yoshizawa N., Shimizu H., Wakita Y., Yokota S., Idei T. *Formation of adventitious roots from callus cultures of Taranoki (Aralia elata Seem.)* // *Bull. Utsunomiya Univ. For.* 1994. №30. P. 19–26.
27. Furuya H., Hosoki T. *Adventitious shoot formation, somatic embryogenesis and plantlet regeneration from in vitro-cultured root tissue of Japanese angelica tree (Aralia elata Seemann)* // *Horticultural Research (Japan)*. 2004.
28. Clement J.A., Clement E.S. *The medicinal chemistry of genus Aralia* // *Current topics in medicinal chemistry*. 2014. №24. P. 2783–2801.
29. Karim M.Z., Shinso Y., Rahman M., Eizawa J., Saito Y., Azad M., Ishiguri F., Iizuka K., Yoshizawa N. *Micropropagation of Plantlets through Callus in Taranoki (Aralia elata)* // *Bull. Utsunomiya Univ. For.* 2007. №43. P. 171–176.
30. Li J.M., Li X.W., Zhang D.Y., Xing M. *Somatic embryogenesis and plant regeneration in vitro from young shoots of Aralia elata (Miq.) Seem* // *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao*. 2001. Vol. 34. №2. P. 137–41.
31. Dai J.L., Tan X., Zhan YG. et al. *Rapid and repetitive plant regeneration of Aralia elata Seem. via somatic embryogenesis* // *Plant. Cell. Tiss. Organ. Cult.* 2011. №104. P. 125–130.
32. Ameniya K., Mochizuki T. *Somatic Embryo Formation and Plant Regeneration in “Zaoh” line №2 of Japanese Angelica Tree (Aralia elata Seem.)* // *Plant. Biotechnology*. Vol. 19. №5. P. 383–387.
33. Yue Sui, Jia-Xi Liu, Yue Zhao, Wen-Hua Guo, Jin-Ling Dai, Xiang-Ling You. *A suspension culture of the hormone autotrophic cell line of Aralia elata (Miq.) Seem. for production of oleanolic acid and flavonoids* // *Industrial Crops and Products*. 2022. Vol. 176. P. 114368.
34. An. C., Song J. *In Vitro Propagation of Medicinal Herbs in Korea* // *Journal of Forest and Environmental Science*. – 2018; 34(1): 77–81.
35. Park S.H., Sim Y.B., Lim S.S. et al. *Antinociception profiles and mechanisms of orally administered Aralia cordata Thunb. Extract in the mouse* // *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 2011. №54, P. 54–58.
36. Park D.-S., Eun Huh J., Yong-Hyeon Baek, *Therapeutic effect of Aralia cordata extracts on cartilage protection in collagenase-induced inflammatory arthritis rabbit model* // *Journal of Ethnopharmacology*. 2009. Vol. 125. №2. P. 207–217.
37. Han W.S. *Isolation of the antimicrobial compounds from Aralia cordata Thunb. extract* // *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 2005. Vol. 13. №4. P. 182–185.
38. Puzerytė V, Viškelis P, Balčiūnaitienė A, Štreimikytė P, Viškelis J, Urbonavičienė D. *Aralia cordata Thunb. as a Source of Bioactive Compounds: Phytochemical Composition and Antioxidant Activity* // *Plants*. 2022. Vol. 11. №13. P. 1704.
39. Nagashima S., Okamoto A., Suzuki H., Asada Y., Kondo T., Yoshikawa T. *Anthocyanin galactosyltransferase from Aralia cordata cDNA cloning and characterization* // *Plant. Biotechnology*. 2004. №21. P. 191–195.

40. Sakamoto K., Iida K., Sawamura K., Hajiro K., Asada Y., Yoshikawa T., Furuya T. Effects of nutrients on anthocyanin production in cultured cells of *Aralia cordata* // *Phytochemistry*. 1993. Vol. 33. №2. P. 357–360.
41. Asada Y., Sakamoto K., Furuya T. A minor anthocyanin from cultured cells of *Aralia cordata* // *Phytochemistry*. 1995. Vol. 35. №6. P. 1471–1473.
42. Lee K. S., Soh W. Y. Somatic embryogenesis and structural aberrancy of embryos in tissue cultures of *Aralia cordata* Thunb. // *Korean J. Plant. Tissue. Cult.* 1993. №20. P. 77–83.
43. Lee K. S., Soh W. Y. Effect of cytokinins on the number of cotyledons of somatic embryos from cultured cells of *Aralia cordata* Thunb. // *Korean J. Plant. Tissue. Cult.* 1993. №20. P. 171–175.
44. Lee K. S., Lee J. C., Soh W. Y. High frequency plant regeneration from *Aralia cordata* somatic embryos // *Plant. Cell. Tissue. Organ. Cult.* 2002. №68. P. 241–246.
45. Xiao-Xia Y. A. N. G., Lin Y. A. N. G. Test on Tissue Culture of *Aralia thomsnii* [J] // *Tropical Agricultural Science & Technology*. 2005. P. 3.
46. Yang L. X., Shen H. L. Callus induction and plant regeneration from axillary bud in *Aralia continentalis* // *Nonwood Forest Research*. 2011. P. 2.

PROSPECTS OF OBTAINING AND INVESTIGATION CELL CULTURES OF *ARALIA* SSP.

D.A. Nekrasova, M.N. Povydysh, N.S. Pivovarova, M.Yu. Goncharov

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

*This article summarizes information about the characteristics, conservation status, methods of introducing into culture in vitro plants of the genus *Aralia* L., describes the secondary metabolites accumulated by cell cultures.*

Keywords: ginseng family, *Araliaceae*, *in vitro* culture, *Aralia* ssp.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ ПУБЛИКАЦИЙ

Редакция журнала «Вопросы обеспечения качества лекарственных средств» просит авторов при подготовке статей для публикации соблюдать следующие правила.

Редакционная этика. Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не допускается направление в редакцию работ, которые уже напечатаны в других изданиях или приняты для публикации другими редакциями.

Статья должна сопровождаться официальным направлением от учреждения, в котором выполнена работа, иметь визу научного руководителя, печать. Статья должна быть подписана всеми авторами (на последней странице), что дает право на ее публикацию и размещение на сайте издательства.

Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать принятые работы. Датой поступления статьи считается время поступления окончательного (переработанного) варианта статьи.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена автором. Изложение должно быть ясным, без длинных введений и повторов.

1. Схема построения статьи. ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ: 1) название статьи; 2) инициалы и фамилии авторов; 3) полное название учреждения, в котором работает автор, с обязательным указанием статуса организации (аббревиатура перед названием) и ведомственной принадлежности; 4) город; 5) УДК.

После титульной страницы на английском языке должны быть представлены: название статьи; инициалы и фамилии авторов; полное название учреждения; реферат (не более 0,5 страницы машинописного текста) и ключевые слова (Keywords).

На отдельной странице указываются дополнительные данные о каждом авторе, необходимые для обработки журнала в Российском индексе научного цитирования: ФИО полностью на русском языке и в транслитерации, e-mail, почтовый адрес (с индексом), телефон для контактов с авторами статьи.

Далее оригинальные статьи должны содержать следующие разделы: РЕЗЮМЕ; КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА; КРАТКОЕ ВВЕДЕНИЕ, отражающее состояние вопроса к моменту написания статьи, цель и задачи настоящего исследования; МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ; РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ; ВЫВОДЫ (по пунктам) или ЗАКЛЮЧЕНИЕ; БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.

2. Объем оригинальной статьи не должен превышать 10 страниц машинописного текста, лекции – 8–10, обзора литературы – 18–20, рецензий, хроники – 4–5, персоналий – 2–3. При подготовке обзорных статей просьба включать в список литературы преимущественно издания последних лет.
3. Материалы должны быть подготовлены в текстовом редакторе Microsoft Word (параметр «Текст DOC»); компьютерный набор должен быть выполнен без форматирования и переносов в текстовом формате ANSI, 14 кеглем, через 1,5 интервала между строками (двойной интервал машинописи).
4. Рисунки в виде графиков, диаграмм необходимо дополнить цифровыми данными в виде таблиц в программе Excel.
5. Рисунки в виде фотографий (гистограммы, эхограммы и др.) должны быть представлены отдельными файлами, а не вставленными в текст статьи. Формат файла для черно-белых рисунков BMP или GIF (расширение *.bmp, *.gif), для цветных рисунков и шкалы серого цвета – JPG (расширение *.jpg), разрешение 600 dpi (пиксели на дюйм);

- возможно использование сжатия ZIP, RAR или другого.
6. Подписи к рисункам располагаются после списка литературы. Каждый рисунок должен иметь общий заголовок, а затем объясняются все имеющиеся в нем цифровые и буквенные обозначения. В подписях к микрофотографиям необходимо указать метод окраски, увеличение.
 7. Таблицы должны быть пронумерованы (сверху справа), иметь название. Сокращения слов в таблицах не допускаются. Таблицы можно давать в тексте, не вынося на отдельные страницы.
 8. Все физические величины, приведенные в статье, должны быть выражены в единицах СИ. При подготовке статьи необходимо учесть правила использования символов, сокращений, условных обозначений и пр., рекомендованных комиссией по биохимической номенклатуре.
 9. Библиографический список должен включать не более 20 источников, для обзоров – не более 50. В список литературы не включают неопубликованные работы.
 10. Нумерацию источников литературы начинают с цифры 1. В тексте статьи ссылки даются в квадратных скобках в строгом соответствии с пристатейным списком литературы. Нумерация источников литературы определяется порядком их цитирования в тексте, а не по алфавиту.

ПРИМЕР ЦИТИРОВАНИЯ СТАТЕЙ ИЗ ЖУРНАЛОВ И ДРУГИХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ИЗДАНИЙ

1. Лоскутова Е.Е., Базаркина О.В. Тенденции и структура спроса на препараты из лекарственных растений // Российские аптеки. – 2003. – №4. – С. 38–40.

ПРИМЕР ЦИТИРОВАНИЯ КНИГ И ОТДЕЛЬНЫХ ГЛАВ

1. Аникин Б.А., Родкина Т.А. Логистика. – М.: Велби, Проспект, 2008. – 408 с.
2. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз / Под. ред. Долгушина И.И. – Екатеринбург, Медицина, 2001. – 279 с.
3. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. СПб – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – 513 с.

ПРИМЕР ЦИТИРОВАНИЯ ДИССЕРТАЦИЙ И АВТОРЕФЕРАТОВ ДИССЕРТАЦИЙ

1. Орлов Ф.С. Анализ и стандартизация лекарственной формы с модифицированным высвобождением нового оригинального отечественного препарата дилепт: дис. ... канд. фарм. наук. – М.: ПМГМУ им. И.М. Сеченова, 2012. – 125 с.

Автор несет полную ответственность за точность данных, приведенных в пристатейном списке литературы.

В редакцию статья направляется по электронной почте на адрес: journal@humanhealth.ru

Статьи, оформление которых не соответствует правилам, возвращаются авторам без рассмотрения редколлегией.

ISSN 2309-6039



9 772309 603770 >