



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. За время пандемии коронавирусной инфекции и выхода из сложной общемировой проблемы, носящей глобальный характер, нашей команде 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 уделяем большое внимание работе со странами, являющимися членами союзных с Российской Федерацией объединений: ЕАЭС, ШОС, БРИКС. 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 №1312-2023

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)

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)

Ермолаева А.С., к.м.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., д.ф.н. (Москва)

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

Суслина С.Н., д.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		УПРАВЛЕНИЕ И ЭКОНОМИКА ФАРМАЦИИ	
ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЭНЗИМНОГО СИНТЕЗА НАРИНГЕНИН-4'-БЕНЗОАТА МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА	4	ФОРМИРОВАНИЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПОДГОТОВКИ КАДРОВ ВЫСШЕЙ КВАЛИФИКАЦИИ В ОРДИНАТУРЕ ПГФА	57
С.В. Печинский, Э.Т. Оганесян, А.Г. Курегян, А.А. Маркарян		Т.Л. Малеева, С.В. Шильникова	
ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ <i>IN SILICO</i> И <i>IN VITRO</i>	12	ФАРМАКОЛОГИЯ. КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ	
Н.А. Давитавян, Е.Б. Никифорова, Ю.А. Погуляй		СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 2'-БРОМФЕНИЛАМИДА 3-N,N-ДИЭТИЛАМИНОПРОПАНОВОЙ КИСЛОТЫ	65
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕЛЛАМУРИНА В ЛИСТЬЯХ БАРХАТА	28	О.В. Гашкова, И.П. Рудакова, А.В. Старкова	
А.И. Радимич, Г.В. Адамов, О.Ю. Куляк, О.Л. Сайбель, Т.Д. Даргаева		АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ	71
СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДОВ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ ШИШЕК	37	Н.В. Колотова, С.В. Чащина	
Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова		ОБЗОРЫ	
ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ		ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ ЛИСТЬЕВ КУБЫШКИ ЖЕЛТОЙ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ	78
РАЗРАБОТКА СОСТАВА ТАБЛЕТОК ГМЛ-3, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ВЛАЖНОГО ГРАНУЛИРОВАНИЯ	43	Д.В. Дрик, Н.В. Нестерова	
В.Б. Маркеев, С.В.Тишков, Е.В. Блынская, К.В. Алексеев, Л.М. Гаевая		СТЕРИНЫ: ИСТОЧНИКИ, СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПУТИ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ	85
ВЛИЯНИЕ ДАВЛЕНИЯ ПРЕССОВАНИЯ НА КАЧЕСТВО ТАБЛЕТОК С БАКТЕРИОФАГОМ	51	В.В. Федотова	
Н.А. Ковязина			

CONTENTS

PHARMACEUTICAL ANALYSIS

AND QUALITY CONTROL OF PHARMACEUTICALS

**OPTIMIZATION OF PARAMETERS
OF ENZYMATIC SYNTHESIS OF NARINGENIN
4'-BENZOATE USING THE METHOD
OF MATHEMATICAL EXPERIMENT
PLANNING** 4

S.V. Pechinskii, E.T. Oganessian,
A.G. Kuregyan, A.A. Markaryan

**STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY
OF NIGELLA SATIVA *IN SILICO*
AND *IN VITRO* STUDIES** 12

N.A. Davitavyan, E.B. Nikiforova,
Yu.A. Pogulyaj

**IMPROVEMENT OF METHODOLOGY
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION
OF PHELLAMURIN IN PHELLODENDRONI
LEAVES** 28

A.I. Radimich, G.V. Adamov,
O.Yu. Kulyak, O.L. Saybel,
T.D. Dargaeva

**SORPTION ACTIVITY
OF POLYSACCHARIDES
OF SIBERIAN FIR CONES** 37

D.K. Gulyaev, V.D. Belonogova

FORMULATION OF MEDICINES

**DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION
OF GML-3 TABLETS OBTAINED
BY WET GRANULATION METHOD** 43

V.B. Markeev, S.V. Tishkov, E.V. Blynskaya,
K.V. Alekseev, L.M. Gaevaya

**THE EFFECT OF PRESSING
PRESSURE ON THE QUALITY
OF BACTERIOPHAGE TABLETS** 51

N.A. Kovyazina

PHARMACY MANAGEMENT AND ECONOMICS

**FORMATION OF EDUCATIONAL
TRAINING PROGRAMS FOR PHARMACISTS
IN RESIDENCE IN PERM STATE
PHARMACEUTICAL ACADEMY** 57

T.L. Maleeva, S.V. Shilnikova

PHARMACOLOGY. CLINICAL PHARMACOLOGY

**SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY
OF A NEW DERIVATIVE
OF 2'-BROMOPHENYLAMIDE
3-N,N-DIETHYLAMINOPROPANOIC ACID** 65

O.V. Gashkova, I.P. Rudakova,
A.V. Starkova

**ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY
ACTIVITY OF DERIVATIVES
1,4-DICARBOXYLIC ACIDS** 71

N.V. Kolotova, S.V. Chashchina

REVIEWS

**PROSPECTS FOR THE USE OF NUPHAR
LUTEA LEAVES IN MEDICINE
AND PHARMACY** 78

D.V. Drik, N.V. Nesterova

**STEROLS: SOURCES, METHODS
OF PRODUCTION AND WAYS
OF MEDICAL USE** 85

V.V. Fedotova

УДК 615.1; 51-7; 542.06; 66.097.3

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.49.38.001>

ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЭНЗИМНОГО СИНТЕЗА НАРИНГЕНИН-4'-БЕНЗОАТА МЕТОДОМ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

С.В. Печинский, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ, г. Пятигорск, ФГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва

Э.Т. Оганесян, доктор фарм. наук, профессор, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ, г. Пятигорск

А.Г. Курегян, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ, г. Пятигорск

А.А. Маркарян, доктор фарм. наук, профессор, помощник ректора ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины Минздрава России, ФГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва

Оптимизация катализа при синтезе или модификации структуры биологически активных соединений (БАС) одновременно может решить такие важные задачи, как снижение энергозатрат, отказ от токсичных растворителей, минимизация использования вспомогательных веществ в ходе синтеза, повышение чистоты. Цель исследования – провести оптимизацию методики энзимного синтеза нарингенин-4'-бензоата методом математического планирования эксперимента. Оценку влияния параметров синтеза на выход сложного эфира нарингенина и бензойной кислоты проводили методом математического планирования эксперимента, используя построение математической модели на основе уравнения регрессии. Методом крутого восхождения определены оптимальные параметры синтеза нарингенин-4'-бензоата. Максимальный выход целевого продукта – нарингенин-4'-бензоата – был достигнут при температуре синтеза 50°C, времени реакции 6 часов, количестве биока-

тализатора 0,5 г и скорости перемешивания 120 об/мин. Максимальное влияние на выход продукта реакции оказывают скорость перемешивания, температура и время синтеза. Построенная математическая модель и выбор оптимальных условий синтеза нарингенин-4'-бензоата методом крутого восхождения обеспечили увеличение выхода сложного эфира до 84% и позволили установить количественное влияние всех изученных параметров на процесс синтеза.

Ключевые слова: математическое планирование эксперимента, крутое восхождение, нарингенин, бензойная кислота, биокатализ, этерификация

Признание российских препаратов конкурентоспособными на фармацевтическом рынке может быть обеспечено стремлением создавать отечественные технологии, которые будут отвечать требованиям и тенденциям развития передового фармацевти-

ческого производства и в первую очередь соответствовать параметрам концепции зеленой технологии [1,2]. С этих позиций наиболее интересной с теоретической точки зрения и перспективной в практическом плане является оптимизация процессов катализа. Очевидно, что грамотно выстроенная концепция катализа при синтезе или модификации структуры биологически активных соединений (БАС) одновременно может решить такие важные задачи, как снижение энергозатрат, отказ от токсичных растворителей, минимизация использования вспомогательных веществ в ходе синтеза, повышение чистоты, а в конечном итоге – снижать себестоимость целевого продукта. Синтез новых лекарственных средств (ЛС) сопряжен с экономическими и экологическими проблемами, поскольку сталкивается с многостадийностью технологических схем, что определяется высокой очисткой индивидуального соединения и все более усложняющейся их структурой, а также большим использованием часто токсичных растворителей и экстрагентов. В связи с этим, по нашему мнению, разработку и оптимизацию схем модификации структур БАС путем получения их полусинтетических производных с применением биокаталитических реакций можно считать актуальной.

Цель исследования – оптимизировать методику синтеза нарингенин-4'-бензоата методом математического планирования эксперимента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Влияние параметров синтеза на выход нарингенин-4'-бензоата устанавливали методом математического планирования эксперимента, используя построение математической модели на основании уравнения регрессии. Синтез целевого продукта – нарингенин-4'-бензоата – проводили в присутствии биоката-

лизатора Novozyme 435 (L4777 Sigma-Aldrich) по опубликованной нами методике [3], для синтеза использовали субстанции нарингенина (5893 Sigma-Aldrich) и бензойной кислоты (242381 Sigma). Контроль выхода нарингенин-4'-бензоата проводили методом ВЭЖХ по разработанной и опубликованной методике [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве модельного объекта для модификации структуры БАС путем энзимного синтеза был выбран нарингенин, который является производным флаванона. Он проявляет противовоспалительные, антимикробные, противовирусные свойства [4–6]. Имеются данные исследований *in vitro* и *in vivo*, которые показали инактивацию канцерогенов после лечения чистым нарингенином [7]. Это соединение обладает потенциалом применения при сердечно-сосудистых заболеваниях [8]. Особый интерес и перспективу представляет противовирусная и антиканцерогенная активность флавоноидов. Ранее в эксперименте *in silico* нами была рассмотрена возможность связывания 30 флавоноидов-лигандов и основной протеазы SARS-CoV-2-3CLpro. В эксперименте изучались производные флавонола и флаванона. Общий анализ всех структур и их активностей позволил предположить, что производные флаванона более активны, чем производные флавонола [9].

Значительное число исследований по модификации флавоноидов в присутствии энзимов описывает их этерификацию по гидроксигруппам углеводного фрагмента в гликозидах [10–15], т. е. при изучении реакций этерификации флавоноидов исследователи чаще используют их гликозиды. Однако, по нашему мнению, более целесообразной будет этерификация агликонов флавоноидов, поскольку именно они являются носителями фармакофора и определяют липофильность

этих соединений, а этерификация, вероятно всего, должна усилить последний параметр. Примечательно, что существует обратная корреляция между числом гидроксигрупп и липофильностью флавоноидов [16]. Одним из путей увеличения липофильности является перевод гидроксильных групп в сложноэфирные [17].

Ранее нами при разработке методики энзимного синтеза сложных эфиров ксантофиллов был применен метод математического планирования эксперимента [18], который показал свою эффективность, поскольку позволяет сократить количество опытов, необходимых для установления оптимальных параметров, а также определить наиболее значимые факторы и степень их как индивидуального, так и совместного влияния на процесс синтеза. На основании данных, описанных в работе [19], было решено изучить влияние следующих факторов: температура синтеза, время протекания реакции, количество биокатализатора и скорость перемешивания реакционной среды.

Для математического описания рассматриваемого процесса синтеза предварительно был построен план эксперимента, вводные данные которого представлены в табл. 1.

Для математического описания вблизи начальных точек поверхности отклика, как и в случае с синтезом эфиров ксантофиллов [18], использовали варьирование каждого фактора на двух уровнях: +1 и -1. При этом

число необходимых опытов для реализации всех возможных сочетаний факторов будет равно 16. План и результат эксперимента по синтезу нарингенин-4'-бензоата представлен в табл. 2.

На основании полученных результатов рассчитывали значения коэффициентов уравнения регрессии:

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} = \frac{1105,3}{16} = 69,08 \quad (1)$$

$$b_2 = 0,655, b_3 = 0,015, b_4 = 1,038 \quad (2)$$

Все коэффициенты в уравнениях регрессии имеют положительное значение, это значит, что все выбранные нами факторы оказывают влияние на реакцию синтеза, а его степень прямо пропорциональна значению коэффициентов.

На основании полученных результатов было составлено опорное уравнение регрессии:

$$y = 69,08 + 0,923x_1 + 0,655x_2 + 0,015x_3 + 1,038x_4 \quad (3)$$

Далее согласно матрице эксперимента по результатам опытов в условиях основного уровня проводили оценку дисперсии коэффициентов уравнений. Вначале проводили оценку дисперсии:

Таблица 1

УСЛОВИЯ ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

	Температура X_1 , °C	Время реакции X_2 , час	Количество биокатализатора X_3 , г	Скорость перемешивания X_4 , об/мин
Основной уровень	25	3,5	1,0	45
Интервал варьирования	5	0,5	0,5	15
Верхний уровень (+1)	30	4	1,5	60
Нижний уровень (-1)	20	3	0,5	30

Таблица 2

ПЛАН И РЕЗУЛЬТАТ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО СИНТЕЗУ НАРИНГЕНИН-4'-БЕНЗОАТА

№ опыта	Уровни факторов				Экспериментальное значение У, %
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	
1	+1	+1	+1	+1	71,15
2	+1	-1	+1	+1	70,89
3	-1	+1	+1	+1	70,11
4	-1	-1	+1	+1	68,48
5	+1	+1	-1	+1	71,03
6	+1	-1	-1	+1	70,72
7	-1	+1	-1	+1	70,04
8	-1	-1	-1	+1	68,55
9	+1	+1	+1	-1	69,86
10	+1	-1	+1	-1	68,22
11	-1	+1	+1	-1	67,93
12	-1	-1	+1	-1	66,15
13	+1	+1	-1	-1	69,88
14	+1	-1	-1	-1	68,30
15	-1	+1	-1	-1	67,91
16	-1	-1	-1	-1	66,12

$$S_y^2 = \frac{\sum (y - \bar{y})^2}{n-1} = \frac{1,45}{5} \quad (4)$$

$$t_1 = \frac{b_1}{S_{b1}} = \frac{0,923}{0,24} = 3,84 \quad (7)$$

Затем определяли среднюю квадратичную погрешность:

$$t_2 = 2,73; \quad t_3 = 0,06; \quad t_4 = 4,33$$

$$S_{bi} = \sqrt{\frac{S_y^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,29}{5}} = \sqrt{0,058} = 0,24 \quad (5)$$

Для выявления значимости коэффициентов уравнений регрессии рассчитывали величину критерия Стьюдента и сравнивали расчетное значение с табличным – 2,57 [20]:

$$t_0 = \frac{b_0}{S_{b0}} = \frac{68,53}{0,24} = 285,5 \quad (6)$$

Коэффициент Стьюдента для третьего (t₃) фактора меньше табличного значения, что свидетельствует о незначительном влиянии на выход продукта синтеза количества биокатализатора в рассматриваемом интервале, а значит, его количество можно уменьшить до значения нижнего уровня 0,5 г. Наибольшее положительное влияние на процесс оказывают скорость перемешивания (t₄), температура (t₁) и время реакции (t₂). Таким образом, после математического моделирования процесса

синтеза была установлена количественная степень влияния факторов.

После оценки значимости влияния факторов на процесс синтеза уравнение приняло окончательный вид:

$$y = 69,08 + 0,923x_1 + 0,655x_2 + 1,038x_4 \quad (8)$$

Для проверки адекватности математической модели в окончательное уравнение регрессии (формула 8) подставляли экспериментальные данные, представленные в табл. 2, и рассчитывали теоретические значения выхода нарингенин-4'-бензоата. Ниже приведен пример определения расчетного содержания:

$$y_1 = 69,08 + 0,923(+1) + 0,655(+1) + 1,038(+1) = 52,53$$

По полученным данным рассчитывали сумму квадратов отклонений экспериментальных данных от теоретических и дисперсию адекватности, где k – число факторов:

$$S_R = \sum (y_3 - y_p)^2 = 1,61 \quad (9)$$

$$S_R^2 = \frac{S_R}{N - (k + 1)} = \frac{1,61}{16 - 5} = 0,15 \quad (10)$$

После этого рассчитывали значение критерия Фишера:

$$F = \frac{S_R^2}{S_y^2} = \frac{0,15}{0,29} = 0,52 \quad (11)$$

Расчетное значение критерия Фишера составило 0,52, что не превышает табличное значение этого показателя – $F_{0,95}(15,5) = 2,90$ [20], следовательно, разработанная модель адекватна.

На следующем этапе проводили оптимизацию процесса синтеза, параметром оптимизации служил выход конечного продукта в процентах от максимального расчетного значения. Для этого использовали метод крутого восхождения, результаты которого представлены в табл. 3. Начальной точкой движения был выбран эксперимент с наилучшими результатами, полученными при построении модели.

Варьирование факторов проводили в соответствии с их влиянием на процесс синтеза и с учетом величины коэффициентов для каждого фактора в окончательном уравнении регрессии. Наибольшее значение коэффициента наблюдается у четвертого и первого факторов – это скорость перемешивания и температура реакции, поэтому их шаг варьирования

Таблица 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ СИНТЕЗА НАРИНГЕНИН-4'-БЕНЗОАТА МЕТОДОМ КРУТОГО ВОСХОЖДЕНИЯ

Характеристика	$X_1, ^\circ\text{C}$	$X_2, \text{ час}$	$X_3, \text{ г}$	$X_4, \text{ об/мин}$	$y, \%$
Начальная точка движения	30	4,0	0,5	60	71,15
Единица варьирования	5	0,5	–	15	–
Коэффициент в уравнении регрессии	0,923	0,655	–	1,038	–
Опыт 1	35	4,5	0,5	75	74,26
Опыт 2	40	5,0	0,5	90	77,50
Опыт 3	45	5,5	0,5	105	81,69
Опыт 4	50	6,0	0,5	120	84,44
Опыт 5	55	6,5	0,5	135	82,31

был максимальным, для незначимого фактора – количество биокатализатора – его значение принимали на минимальном уровне 0,5 г во всех экспериментах. Результаты выбора оптимальных условий синтеза методом крутого восхождения представлены в табл. 3.

В результате поиска оптимальных значений в четвертом опыте при температуре 50°C, времени реакции 6 часов, количестве биокатализатора 0,5 г и скорости перемешивания 120 об/мин был достигнут максимальный выход продукта синтеза – около 84%. Дальнейшее увеличение параметров не приводило к увеличению выхода продукта, о чем свидетельствуют результаты опыта 5: около 82%.

ВЫВОДЫ

С помощью построения математической модели и поиска оптимальных условий методом крутого восхождения был увеличен выход нарингенин-4'-бензоата с 71% в начальных условиях эксперимента до 84%. На основании экспериментальных данных и теоретических расчетов определены оптимальные параметры синтеза нарингенин-4'-бензоата: количество биокатализатора – 0,5 г, температура синтеза – 50°C, время синтеза – 6 ч, скорость перемешивания реакционной среды – 120 об./мин. Ввиду того, что флавоноиды обладают схожестью структур, а следовательно, близкими химическими свойствами, то, вероятнее всего, в дальнейшем можно будет экстраполировать результаты оптимизации параметров синтеза нарингенин-4'-бензоата на синтез сложных эфиров других флавоноидов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Paul T. Anastas, Tracy C. Williamson *Green chemistry*. ACS Symposium Series. 1996; 626: 1–17. DOI: 10.1021/bk-1996-0626.ch001.
2. Anastas P.T., Warner J.C. *Green chemistry: theory and practice*. – New York: Oxford University Press, 1998.
3. Pechinskii S.V., Kuregyan A.G., Oganesyanyan E.T. *Chemoenzyme synthesis of flavonoid esters // Russian Journal of General Chemistry*. – 2022. – Т. 92 – №8 – P. 1401–1407.
4. Zeng W., Jin L., Zhang F., Zhang C., Liang W. *Naringenin as a potential immunomodulator in therapeutics // Pharmacol. Res.* 2018 Sep; 135: 122–126. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.08.002.
5. Liu S., Li C., Dai X., Song T., Wang X., He Y., He Z., Tan J., Zhang J. *Naringenin: A flavanone with anti-inflammatory and anti-infective properties // Biomed. Pharmacother.* 2023 Aug; 164: 114990. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114990.
6. Tutunchi H., Naeini F., Ostadrahimi A., Hosseinzadeh-Attar M.J. *Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19 // Phytother. Res.* 2020 Dec; 34(12): 3137–3147. DOI: 10.1002/ptr.6781.
7. Motallebi M., Bhia M., Rajani H.F., Bhia I., Tabarraei H., Mohammadkhani N., Pereira-Silva M., Kasaii M.S., Nouri-Majd S., Mueller A.L., Veiga F.J. B., Paiva-Santos A.C., Shakibaei M. *Naringenin: A potential flavonoid phytochemical for cancer therapy // Life Sci.* 2022 Sep 15; 305: 120752. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120752.
8. Heidary Moghaddam R., Samimi Z., Moradi S.Z., Little P.J., Xu S., Farzaei M.H. *Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review // Eur.J. Pharmacol.* 2020 Nov 15; 887: 173535. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173535.
9. Печинский С.В., Оганесян Э.Т. Курегиан А.Г. *Поиск активных кандидатов в ряду флавоноидов в отношении возбудителя SARS-CoV-2 методом молекулярного докинга // Фармацевтическое дело и технология лекарств.* 2021. №1. С. 22. DOI: 10.33920/med-13-2101-02.
10. Almeida V.M., Carla R.C. Branco, Sandra A. Assis, Ivo. J.C. Vieira, Braz-Filho R., Branco A.

- Almeida, et al. Synthesis of naringin 6'' – rici-noleate using immobilized lipase // *Chemistry Central Journal*. 2012. Vol. 6. №41. P. 2. DOI: 10.1186/1752-153X-6-41.
11. Nobuyoshi Nakajima, Kohji Ishihara, Hiroki Hamada, Sei-Ichirou Kawabe, Tsutomu Furuya. Regioselective acylation of flavonoid gluco-side with aromatic acid by an enzymatic reac-tion system from cultured cells of *Ipomoea batatas* // *Journal of Bioscience and Bioengi-neering*. 2000. Vol. 90. №3. 347. DOI: 10.1016/s1389-1723(00)80095-x.
 12. David E. Stevenson, Reginald Wibisono, Dwayne J. Jensen, Roger A. Stanley, Janine M. Cooney. Direct acylation of flavonoid glyco-sides with phenolic acids catalysed by *Candida antarctica* lipase B (Novozym 435®) // *Enzyme and Microbial Technology*. 2006. №39. 1236. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2006.03.006.
 13. Jiumn-Yih Wu, Tzi-Yuan Wang, Hsiou-Yu Ding, Yun-Rong Zhang, Shu-Yuan Lin, Te-Sheng Chang // *Molecules*. 2021. №26. P. 6274. doi.org/10.3390/molecules26206274.
 14. Razak N.N. A., Annuar M.S. M. // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2015. Vol. 54. №21. 150513175333005. DOI: 10.1021/acs.iecr.5b00996.
 15. Passicos E., Santarelli X., Coulon D. // *Biotech-nology Letters*. 2004. №26. P. 1073. doi.org/10.1023/B:BILE.0000032967.23282.15.
 16. van Dijk C., Driessen A.J., Recourt K. // *Biochem. Pharmacol*. 2000. Vol. 60. №11. P. 1593. DOI: 10.1016/S0006-2952(00)00488-3.
 17. Viskupicova J., Ondrejovic M., Maliar T. // *Bio-chemistry*. 2011. DOI: 10.5772/34174.
 18. Печинский С.В., Оганесян Э.Т., Курегян А.Г. Оптимизация синтеза сложного эфира астаксантина методом математическо-го планирования // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2023. Т. 26. №6. С. 3–9.
 19. Roy S., Dhaneshwar S., Bhasin B. *Drug Repur-posing: An Emerging Tool for Drug Reuse, Recy-cling and Discovery* // *Curr. Drug. Res. Rev.* 2021; 13(2): 101–119. DOI: 10.2174/2589977513666210211163711.
 20. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. Москва, 2023. URL: <http://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.

OPTIMIZATION OF PARAMETERS OF ENZYMATIC SYNTHESIS OF NARINGENIN 4'-BENZOATE USING THE METHOD OF MATHEMATICAL EXPERIMENT PLANNING

S.V. Pechinskii^{1,2}, E.T. Oganesyanyan¹, A.G. Kuregyan¹, A.A. Markaryan²

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education VolgGMU of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Optimizing catalysis in the synthesis or modification of the structure of biologically active compounds (BACs) can simultaneously solve such important problems as reducing energy costs, eliminating toxic solvents, minimizing the use of excipients during synthesis, increasing purity and, finally, reducing the cost of the target product. The purpose of the study is to optimize the method of enzymatic synthesis of naringenin-4'-benzoate using the method of mathematical experimental design. The influence of synthesis parameters on the yield of the ester of naringenin and benzoic acid was assessed by the method

of mathematical experimental planning, using the construction of a mathematical model based on a regression equation. The optimal parameters for the synthesis of naringenin-4'-benzoate were determined using the steep ascent method. The maximum yield of the target product, naringenin-4'-benzoate, was achieved at a synthesis temperature of 50°C, a reaction time of 6 hours, an amount of biocatalyst of 0.5 g, and a stirring speed of 120 rpm. The maximum influence on the yield of the reaction product is exerted by the stirring speed, temperature and synthesis time. The constructed mathematical model and the choice of optimal conditions for the synthesis of naringenin-4'-benzoate using the steep ascent method ensured an increase in the yield of the ester to 84% and made it possible to establish the quantitative influence of all studied parameters on the process of its synthesis.

Keywords: mathematical planning of an experiment, steep ascent, naringenin, benzoic acid, biocatalysis, esterification

УДК 615:633.88:001.89

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.61.22.002>

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ *IN SILICO* И *IN VITRO*

Н.А. Давитавян, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармации, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», г. Краснодар, pharmdep@ksma.ru

Е.Б. Никифорова, канд. фарм. наук, зав. кафедрой фармации ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», г. Краснодар, pharmdep@ksma.ru

Ю.А. Погуляй, студент 5-го курса фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», г. Краснодар, yu.pogulyai@yandex.ru

В работе изучалась антиоксидантная активность биологически активных веществ семян чернушки посевной в исследованиях *in silico* и *in vitro*. Проведенные испытания показали, что семена чернушки посевной и продукты на их основе могут быть рассмотрены в качестве перспективного источника экзогенных антиоксидантов, потенциально востребованных.

Ключевые слова: чернушка посевная, масло черного тмина, сверхкритические углекислотные экстракты, Molinspiration chemoinformatic software, PASS-online

Значительную роль в патогенезе хронических заболеваний играет окислительный стресс, который представляет собой повышенный уровень оксидантов – активных форм кислорода и свободных радикалов, потенциально приводящих к повреждению молекулярных компонентов клетки, что негативно сказывается на всем организме, поскольку происходит нарушение основных физиологических функций и систем органов [1,2]. Способность клеток удалять основные повреждающие агенты во многом зависит от эффективности системы антиоксидантной защиты, состоящей из эндогенных и экзогенных антиоксидантов. К эндогенным антиоксидантам относятся вещества

ферментного происхождения, такие как супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза, а также глутатион, токоферолы и др. Экзогенные антиоксиданты представляют собой извне вводимые вещества различного происхождения. В частности, к таковым относятся биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения антиоксидантной направленности [3].

Одним из богатейших источников экзогенных антиоксидантов является чернушка посевная (*Nigella sativa* L.) – однолетнее травянистое растение семейства Ranunculaceae. Семена данного растения содержат большое количество БАВ, таких как эфирное и жирное масло, каротиноиды, алкалоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты и др. [4]. Указанные группы БАВ, согласно различным научным исследованиям, обуславливают различные фармакологические эффекты данного растения. В частности, компоненты эфирного масла проявляют выраженные антиоксидантные свойства. Например, тимохинон угнетает перекисное окисление липидов и усиливает поглощение окислителей за счет сохранения активности эндогенных антиоксидантов – каталазы и глутатионпероксидазы [5]. Тимол и карвакрол поглощают активные формы кислорода и азота, ингибируют окисление липидов и,

следовательно, уменьшают повреждение биологической клеточной мембраны, защищают ткани и клетки от окисления [6]. Что касается жирного масла, то комплекс ненасыщенных жирных кислот семян чернушки посевной (СЧП) также обуславливает антиоксидантные свойства. При этом мононенасыщенные жирные кислоты поддерживают необходимую подвижность клеточных мембран, тем самым облегчая прохождение в клетку полиненасыщенных жирных кислот, в частности линолевой кислоты, активно ингибирующей свободнорадикальные процессы в организме [7]. Важнейшей группой БАВ СЧП с мощным антиоксидантным эффектом являются каротиноиды [8]. Заметную роль среди БАВ СЧП играют алкалоиды – нигеллицин, нигеллидин, нигеллимин, которые в эксперименте продемонстрировали высокую результативность при лечении различных желудочно-кишечных расстройств [9]. Содержащийся в составе СЧП альфа-хедерин из группы сапонинов проявляет антиоксидантную активность, связанную с поглощением супероксидных анион-радикалов [10].

Наряду с этим фенолкарбоновые кислоты СЧП, представленные главным образом кофейной кислотой, эффективно снижают уровень окислительного стресса [11].

Таким образом, принимая во внимание ценность БАВ СЧП, представлялось целесообразным провести их антиоксидантный скрининг в исследованиях *in silico* и *in vitro* для последующей разработки лекарственных средств на основе данного растительного сырья.

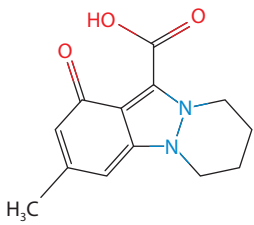
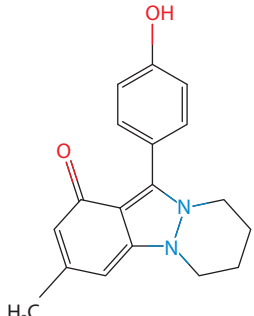
Целью работы явилось изучение и прогнозирование спектра антиоксидантной активности БАВ СЧП и продуктов на их основе в исследованиях *in silico* и *in vitro*.

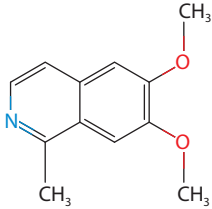
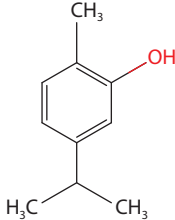
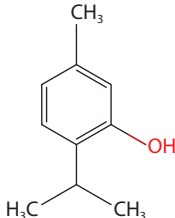
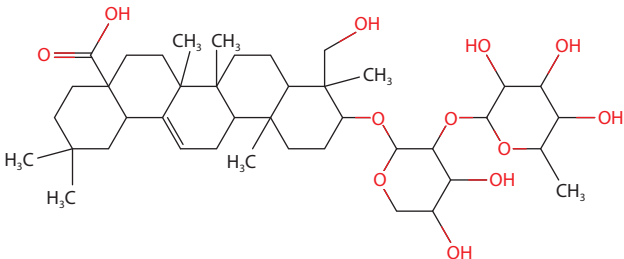
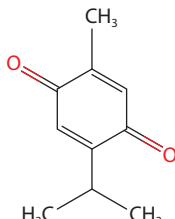
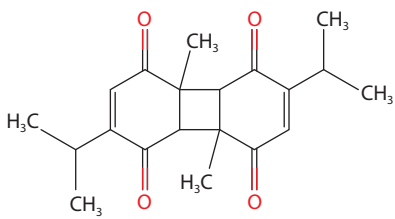
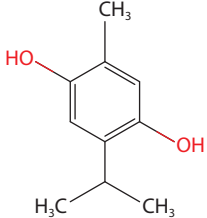
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования выступили структурные формулы БАВ СЧП (табл. 1), потенциально обладающие антиоксидантной активностью, сведения о которых были взяты из базы данных PubChem [12]. Для проведения отдельных испытаний антиоксидантной

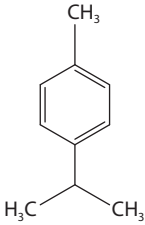
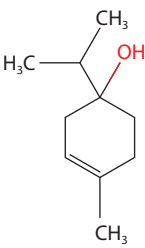
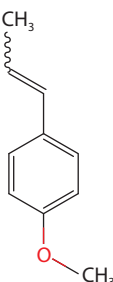
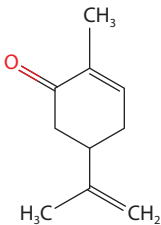
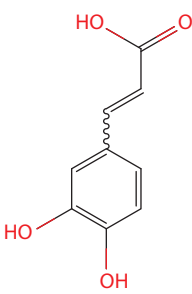
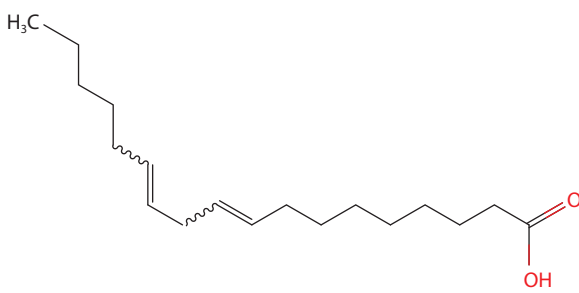
Таблица 1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ

Наименование БАВ	Структурная формула БАВ	Химическое наименование БАВ
Нигеллицин		3-метил-1-оксо-6,7,8,9-тетрагидропиридазино[1,2-а]индазол-11-карбоновая кислота
Нигеллидин		11-(4-гидроксифенил)-3-метил-6,7,8,9-тетрагидро-1H-пиридазино[1,2-а]индазол-1-он

Наименование БАВ	Структурная формула БАВ	Химическое наименование БАВ
Нигеллимин		6,7-диметокси-1-метилизохинолин
Карвакрол		2-метил-5-пропан-2-илфенол
Тимол		5-метил-2-пропан-2-илфенол
Альфа-хедерин		23-гидрокси-3β-[α-L-рамнопиранозил-(2→1)-α-L-арабинопиранозилокси] олеан-12-ен-28-оиковая кислота
Тимохинон		2-метил-5-пропан-2-илциклогекса-2,5-диен-1,4-дион
Дитимохинон		4b,8b-диметил-3,7-ди(пропан-2-ил)-4a,8a-дигидробифенилен-1,4,5,8-тетрон
Тимогидрохинон		2-метил-5-пропан-2-илбензол-1,4-диол

Окончание таблицы 1

Наименование БАВ	Структурная формула БАВ	Химическое наименование БАВ
п-Цимен		1-метил-4-пропан-2-илбензол
4-терпинеол		4-метил-1-пропан-2-илциклогекс-3-ен-1-ол
Анетол		1-метокси-4-[(E)-проп-1-енил]бензол
Карвон		2-метил-5-проп-1-ен-2-илциклогекс-2-ен-1-он
Кофейная кислота		(E)-3-(3,4-дигидроксифенил)проп-2-еновая кислота
Линолевая кислота		(9Z,12Z)-октадека-9,12-диеновая кислота

активности использовали водное, водно-спиртовые извлечения, сверхкритический углекислотный экстракт, а также сертифицированный коммерческий образец масла черного тмина из СЧП. Водное и водно-спиртовые извлечения из СЧП получали с использованием воды очищенной и 40%, 70%, 95% этилового спирта по фармакопейной методике [13]. Коммерческий образец масла черного тмина был произведен ООО «РУСОИЛ» (Россия); сверхкритический углекислотный экстракт СЧП был получен с применением флюидной технологии [14].

Предсказание биологической активности и расчет молекулярных свойств БАВ СЧП осуществляли, используя программу Molinspiration chemoinformatic software [15].

Компьютерный прогноз спектра действия БАВ проводили также по структурным формулам посредством ресурса PASS-online [16].

Антиоксидантную активность БАВ СЧП в *in vitro* эксперименте изучали, опираясь на общеизвестную методику, в основе которой лежит реакция взаимодействия антиоксидантов с пероксидом водорода [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения молекулярных свойств БАВ СЧП и соответствие этих соединений концепции drug-likeness и правилу Липински представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

РАСЧЕТ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ (MOLINSPIRATION)

Наименование БАВ	Липофильность (miLogP)	Топологический дескриптор площади полярных поверхностей (TPSA)	Число атомов (natoms)	Молек. масса (MW)	Число акцепторов водородных связей (nON)
Нигеллицин	1,65	64,24	18	246,27	5
Нигеллидин	3,03	47,17	22	294,35	4
Нигеллимин	1,89	31,36	15	203,24	3
Карвакрол	3,81	20,23	11	150,22	1
Тимол	3,34	20,23	11	150,22	1
Альфа-хедерин	3,57	195,60	53	750,97	12
Тимохинон	1,90	34,14	12	164,20	2
Дитимохинон	1,70	68,28	24	328,41	4
Тимогидрохинон	3,26	40,46	12	166,22	2
п-Цимен	3,90	0,00	10	134,22	0
4-терпинеол	2,60	20,23	11	154,25	1
Анетол	3,10	9,23	11	148,21	1
Карвон	2,51	17,07	11	150,22	1
Кофейная кислота	0,94	77,75	13	180,16	4
Линолевая кислота	6,86	37,30	20	280,45	2

Таблица 3

**РАСЧЕТ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ (MOLINSPIRATION)**

Наименование БАВ	Число доноров водородных связей (nOHNN)	Число нарушений молекулы (nviolations)	Число вращающихся связей (nrotb)	Молекулярный объем (volume)
Нигеллицин	1	0	1	217,68
Нигеллидин	1	0	1	270,11
Нигеллимин	0	0	2	191,53
Карвакрол	1	0	1	158,57
Тимол	1	0	1	158,57
Альфа-хедерин	7	3	6	710,54
Тимохинон	0	0	1	161,10
Дитимохинон	0	0	2	310,56
Тимогидрохинон	2	0	1	166,59
п-Цимен	0	0	1	150,55
4-терпинеол	1	0	1	170,65
Анетол	0	0	2	153,57
Карвон	0	0	1	159,48
Кофейная кислота	3	0	2	154,50
Линолевая кислота	1	1	14	312,65

Как видно из данных, приведенных в табл. 2 и 3, для всех изученных соединений, за исключением линолевой кислоты, коэффициент разделения октанола и воды оказался менее 5, что позволяет прогнозировать хорошую проницаемость через клеточную мембрану. Кроме того, топологический дескриптор площади полярных поверхностей и молекулярная масса для изучаемых соединений, кроме альфа-хедерина, были определены на уровне менее 160 и 500 соответственно, что свидетельствует об их потенциально хорошей абсорбции. Что касается числа вращающихся связей, то выявлено, что их количество для всех БАВ, за исключением линолевой кислоты, составило менее 10, что может говорить о гибкости молекул. Изуче-

ние числа доноров и акцепторов водородных связей в ряду рассматриваемых БАВ показало, что альфа-хедерин как вещество не соответствует установленным требованиям правила Липински. Таким образом, все представленные соединения, за исключением альфа-хедерина и линолевой кислоты, соответствуют концепции drug-likeness и правилу Липински, что позволяет рассматривать их как потенциальные фармакологически активные соединения.

Результаты оценки биологической активности БАВ СЧП с использованием *in silico* методов Molinspiration chemoinformatic software и PASS-online отражены в табл. 4 и 5.

Сведения, представленные в табл. 4, свидетельствуют о том, что линолевая кислота и ни-

Таблица 4

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАВ СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ (MOLINSPIRATION)

Наименование БАВ	Лиганд для GPCR	Модулятор ионных каналов	Ингибитор киназ	Лиганд для ядерных рецепторов	Ингибитор протеаз	Ингибитор ферментов
Нигеллицин	-0,15	-0,00	-0,18	-0,29	-0,57	0,20
Нигеллидин	0,07	0,01	0,29	0,10	-0,32	0,19
Нигеллимин	-0,47	-0,17	-0,40	-0,75	-0,64	-0,12
Карвакрол	-1,02	-0,51	-1,15	-0,70	-1,25	-0,56
Тимол	-1,05	-0,53	-1,29	-0,78	-1,34	-0,57
Альфа-хедерин	-0,91	-2,12	-1,89	-1,38	-0,56	-0,90
Тимохинон	-1,40	-0,31	-1,27	-1,47	-1,45	-0,40
Дитимохинон	-0,18	-0,09	-0,48	0,14	-0,10	0,10
Тимогидрохинон	-0,92	-0,44	-1,06	-0,54	-1,17	-0,46
п-Цимен	-1,18	-0,61	-1,40	-1,21	-1,42	-0,78
4-терпинеол	-0,56	-0,04	-1,68	-0,20	-0,92	0,06
Анетол	-1,23	-0,69	-1,31	-0,94	-1,46	-0,73
Карвон	-1,23	-0,30	-2,51	-0,54	-1,21	-0,45
Кофейная кислота	-0,48	-0,23	-0,81	-0,10	-0,79	-0,09
Линолевая кислота	0,29	0,17	-0,16	0,31	0,12	0,38

геллидин оказались высокоактивными соединениями (≥ 0) в отношении GPCR-рецепторов, а остальные БАВ СЧП проявили умеренную активность (≤ 0). Оценка биологического действия БАВ СЧП в отношении модуляции ионных каналов позволила установить, что высокоактивными в данном отношении (≥ 0) оказались нигеллицин, нигеллидин и линолевая кислота, при этом другие БАВ СЧП можно охарактеризовать как умеренно активные (≤ 0). Кроме того, нигеллидин проявляет высокую активность (≥ 0) как ингибитор киназ в сравнении с остальными соединениями, которые оказывают умеренную активность (≤ 0). Высокая лигандная активность для ядерных рецепторов

(≥ 0) наблюдается у нигеллидина, дитимохинона и линолевой кислоты, в то время как другие изученные БАВ СЧП демонстрируют умеренную активность (≤ 0). Показатель ингибирования протеаз был установлен на высоком уровне (≥ 0) для линолевой кислоты в отличие от других БАВ с умеренной активностью (≤ 0). Наряду с этим высокая активность (≥ 0) в отношении ингибирования ферментов обнаружена для нигеллицина, нигеллидина, дитимохинона, 4-терпинеола и линолевой кислоты. Таким образом, все изученные соединения СЧП обладают биологической активностью, от умеренной до высокой, что создает предпосылки для их дальнейшего изучения.

Таблица 5

**КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БАВ
СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ (PASS-ONLINE)**

Наименование БАВ	Вид активности	P _a	P _i
Нигеллицин	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,767	0,009
	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,630	0,095
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,560	0,051
	Ингибитор высвобождения гистамина	0,485	0,044
	Мембранопротекторная	0,399	0,173
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,375	0,077
	Цитопротекторная	0,339	0,142
	Антагонист тромбоксана В2	0,330	0,173
	Ангиопротекторная	0,325	0,130
	Поглотитель кислорода	0,302	0,177
	Ингибитор бета-каротина 15,15' – монооксигеназы	0,288	0,054
	Кардиопротекторная	0,286	0,095
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,258	0,147
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,196	0,136
	Утилизатор свободных радикалов	0,182	0,093
Поглотитель оксидов азота	0,181	0,067	
Нигеллидин	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,801	0,006
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,582	0,043
	Агонист целостности мембран	0,570	0,082
	Мембранопротекторная	0,529	0,125
	Ангиопротекторная	0,481	0,045
	Ингибитор высвобождения гистамина	0,474	0,049
	Ингибитор пероксидазы	0,397	0,052
	Ингибитор бета-каротина 15,15' – монооксигеназы	0,374	0,030
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,374	0,048
	Антагонист тромбоксана В2	0,371	0,129
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,295	0,066
	Утилизатор свободных радикалов	0,213	0,066
	Антиоксидантная	0,163	0,087

Продолжение таблицы 5

Наименование БАВ	Вид активности	P_a	P_i
Нигеллимин	Ингибитор тауриндегидрогеназы	0,832	0,008
	Мембранопротекторная	0,662	0,074
	Ингибитор пероксидазы	0,599	0,025
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,593	0,030
	Антагонист тромбоксана В2	0,537	0,018
	Ингибитор хлоридпероксидазы	0,531	0,043
	Ангиопротекторная	0,491	0,043
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,506	0,072
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,467	0,045
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,437	0,022
Карвакрол	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,931	0,004
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,888	0,003
	Мембранопротекторная	0,880	0,005
	Агонист целостности мембраны	0,802	0,036
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,748	0,010
	Ангиопротекторная	0,661	0,014
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,644	0,007
	Ингибитор пероксидазы	0,625	0,021
	Субстрат для пероксидазы	0,537	0,008
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,451	0,018
	Антагонист тромбоксана В2	0,450	0,060
	Ингибитор хлоридпероксидазы	0,436	0,081
	Кардиопротекторная	0,398	0,027
	Антиоксидантная	0,302	0,023
	Утилизатор свободных радикалов	0,295	0,032
Тимол	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,931	0,004
	Мембранопротекторная	0,922	0,004
	Агонист целостности мембраны	0,802	0,036
	Ангиопротекторная	0,746	0,008
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,690	0,017
	Ингибитор бета-каротина 15,15' – монооксигеназы	0,675	0,006

Продолжение таблицы 5

Наименование БАВ	Вид активности	P_a	P_i
Тимол	Ингибитор пероксидазы	0,625	0,021
	Субстрат для пероксидазы	0,537	0,008
	Ингибитор высвобождения гистамина	0,474	0,050
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,451	0,018
	Антагонист тромбоксана В2	0,450	0,060
	Кардиопротекторная	0,393	0,028
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,395	0,068
	Утилизатор свободных радикалов	0,348	0,023
	Антиоксидантная	0,299	0,023
Альфа-хедерин	Гепатопротекторная	0,997	0,000
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,980	0,001
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,840	0,004
	Антиоксидантная	0,575	0,005
	Утилизатор свободных радикалов	0,265	0,040
Дитимохинон	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,862	0,014
	Мембранопротекторная	0,829	0,012
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,680	0,018
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,678	0,019
	Ангиопротекторная	0,581	0,023
	Гепатопротекторная	0,555	0,016
	Цитопротекторная	0,534	0,053
	Ингибитор бета-каротина 15,15' – монооксигеназы	0,407	0,024
	Агонист целостности мембраны	0,432	0,127
	Поглотитель кислорода	0,392	0,100
	Субстрат для пероксидазы	0,310	0,038
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,323	0,083
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,303	0,063
	Антиоксидантная	0,227	0,043
	Утилизатор свободных радикалов	0,162	0,114
Тимогидрохинон	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,934	0,003
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,888	0,003

Продолжение таблицы 5

Наименование БАВ	Вид активности	P_a	P_i
Тимогидрохинон	Мембранопротекторная	0,889	0,005
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,693	0,016
	Ангиопротекторная	0,669	0,013
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,653	0,007
	Ингибитор пероксидазы	0,647	0,018
	Цитопротекторная	0,638	0,018
	Поглотитель кислорода	0,593	0,024
	Субстрат для пероксидазы	0,534	0,008
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,447	0,019
	Поглотитель оксидов азота	0,403	0,003
	Антагонист тромбоксана В2	0,451	0,059
	Антиоксидантная	0,367	0,015
	Гепатопротекторная	0,364	0,039
	Утилизатор свободных радикалов	0,356	0,022
п-Цимен	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,928	0,004
	Мембранопротекторная	0,919	0,004
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,811	0,005
	Ангиопротекторная	0,756	0,007
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,755	0,010
	Агонист целостности мембраны	0,745	0,047
	Поглотитель кислорода	0,619	0,019
	Цитопротекторная	0,587	0,035
	Ингибитор пероксидазы	0,510	0,038
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,500	0,038
	Ингибитор высвобождения гистамина	0,497	0,038
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,464	0,015
	Ингибитор бета-каротина 15,15' – монооксигеназы	0,446	0,018
	Антагонист тромбоксана В2	0,461	0,053
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,431	0,027
	Поглотитель оксидов азота	0,346	0,004
	Субстрат для пероксидазы	0,361	0,026

Продолжение таблицы 5

Наименование БАВ	Вид активности	P_a	P_i
п-Цимен	Кардиопротекторная	0,356	0,045
	Гепатопротекторная	0,327	0,051
	Утилизатор свободных радикалов	0,192	0,083
	Антиоксидантная	0,144	0,110
4-терпинеол	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,842	0,019
	Агонист целостности мембраны	0,737	0,048
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,636	0,026
	Мембранопротекторная	0,644	0,082
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,580	0,032
	Ангиопротекторная	0,442	0,059
	Поглотитель кислорода	0,422	0,083
	Поглотитель оксидов азота	0,322	0,005
	Гепатопротекторная	0,352	0,043
	Цитопротекторная	0,403	0,096
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,324	0,082
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,274	0,077
	Субстрат для пероксидазы	0,250	0,062
	Антагонист тромбксана В2	0,312	0,194
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,246	0,171
	Кардиопротекторная	0,221	0,159
Антиоксидантная	0,151	0,102	
Анетол	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,902	0,005
	Агонист целостности мембраны	0,904	0,010
	Мембранопротекторная	0,785	0,023
	Ангиопротекторная	0,692	0,011
	Ингибитор бета-каротина 15,15' – монооксигеназы	0,680	0,006
	Поглотитель кислорода	0,638	0,015
	Цитопротекторная	0,620	0,023
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,584	0,004
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,591	0,031
	Утилизатор свободных радикалов	0,536	0,008

Продолжение таблицы 5

Наименование БАВ	Вид активности	P_a	P_i
Анетол	Ингибитор оксидоредуктазы	0,553	0,054
	Антагонист тромбоксана В2	0,487	0,038
	Ингибитор пероксидазы	0,474	0,042
	Субстрат для пероксидазы	0,439	0,015
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,423	0,058
	Ингибитор высвобождения гистамина	0,458	0,058
	Ингибитор липидной пероксидазы	0,439	0,026
	Гепатопротекторная	0,352	0,043
	Антиоксидантная	0,324	0,019
	Поглотитель оксидов азота	0,283	0,010
Карвон	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,738	0,054
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,629	0,025
	Цитопротекторная	0,440	0,080
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,401	0,108
	Гепатопротекторная	0,334	0,049
	Поглотитель кислорода	0,387	0,103
	Поглотитель оксидов азота	0,258	0,017
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,321	0,084
	Ангиопротекторная	0,336	0,120
	Антиоксидантная	0,193	0,059
	Утилизатор свободных радикалов	0,150	0,128
Кофейная кислота	Агонист целостности мембраны	0,955	0,003
	Мембранопротекторная	0,945	0,003
	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,843	0,019
	Ингибитор алкан-1-монооксигеназы	0,809	0,005
	Ангиопротекторная	0,782	0,006
	Ингибитор пероксидазы	0,753	0,007
	Субстрат для пероксидазы	0,713	0,003
	Цитопротекторная	0,702	0,005
	Поглотитель кислорода	0,672	0,010
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,654	0,023

Окончание таблицы 5

Наименование БАВ	Вид активности	P_a	P_i
Кофейная кислота	Утилизатор свободных радикалов	0,647	0,005
	Ингибитор метаболизма ретиноевой кислоты	0,623	0,003
	Антиоксидантная	0,603	0,005
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,579	0,025
	Антагонист тромбоксана В2	0,510	0,027
	Гепатопротекторная	0,461	0,024
	Поглотитель оксидов азота	0,327	0,005
Линолевая кислота	Мембранопротекторная	0,949	0,003
	Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,870	0,011
	Ангиопротекторная	0,852	0,004
	Ингибитор оксидоредуктазы	0,848	0,004
	Ингибитор супероксиддисмутазы	0,814	0,006
	Субстрат для пероксидазы	0,803	0,002
	Агонист целостности мембраны	0,753	0,045
	Цитопротекторная	0,721	0,004
	Поглотитель кислорода	0,699	0,006
	Антагонист тромбоксана В2	0,655	0,004
	Гепатопротекторная	0,616	0,011
	Утилизатор свободных радикалов	0,315	0,027
	Антиоксидантная	0,314	0,021
	Поглотитель оксидов азота	0,348	0,004

Согласно данным, представленным в табл. 5, для всех изученных БАВ СЧП, кроме нигеллицина и нигеллимина, установлено наличие прямого и косвенного антиоксидантного действия. Что касается нигеллицина и нигеллимина, то для них определена косвенная антиоксидантная активность, реализация которой возможна посредством связывания со специфическими ферментами.

Данные, полученные в ходе изучения антиоксидантной активности продуктов из СЧП в *in vitro* эксперименте, приведены в табл. 6.

Результаты исследования антиоксидантной активности *in vitro* показывают, что в ряду изученных водного и спирто-водных извлечений из СЧП их антиоксидантная активность возрастала с уменьшением полярности экстрагента. Таким образом, наиболее выраженную антиоксидантную активность демонстрировало извлечение, полученное с применением 95% спирта этилового. При этом антиоксидантное действие данной фракции коррелировало с уровнем проявления такового у масла черного тмина. Что касается сверхкритического

Таблица 6

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКТОВ ИЗ СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ В IN VITRO ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Объект исследования	Антиоксидантная активность, %
Водное извлечение из СЧП	15,66±0,31
Водно-спиртовое извлечение из СЧП (экстрагент – 40% этиловый спирт)	16,87±0,34
Водно-спиртовое извлечение из СЧП (экстрагент – 70% этиловый спирт)	26,51±0,53
Водно-спиртовое извлечение из СЧП (экстрагент – 95% этиловый спирт)	48,19±0,96
Масло черного тмина	54,22±1,08
Сверхкритический углекислотный экстракт	81,93±1,64

углекислотного экстракта, то данный продукт отличался наиболее высокой антиоксидантной активностью, значительно превосходящей выраженность действия жирного масла и 95% спиртового извлечения из СЧП.

ВЫВОДЫ

Изучена антиоксидантная активность БАВ СЧП в исследованиях *in silico* и *in vitro*. Проведенные испытания показали, что СЧП и продукты на их основе могут быть рассмотрены в качестве перспективного источника экзогенных антиоксидантов и потенциально востребованны.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Chaudhary M.R., et al. Aging, oxidative stress and degenerative diseases: mechanisms, complications and emerging therapeutic strategies // *Biogerontology*. – 2023. – №24. – P. 609–662.
2. Forman H.J., Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of anti-oxidant therapy // *Nature reviews / drug discovery*. – 2021. – №20. – P. 689–709.
3. Stern M., McNew J.A. A transition to degeneration triggered by oxidative stress in degenerative disorders // *Mol. Psychiatry*. – 2021. – №26(3). – P. 736–746.
4. Ferizi R., et al. Black Seeds (*Nigella sativa*) Medical Application and Pharmaceutical Perspectives // *J. Pharm. Bioallied. Sci.* – 2023. – №15(2). – P. 63–67.
5. Aldreini S., et al. Thymoquinone enhances the antioxidant and anticancer activity of Lebanese propolis // *World Journal of Clinical Oncology*. – 2023. – №14(5). – P. 203–214.
6. Aebisher D., et al. Essential Oils of Seven Lamiales Plants and Their Antioxidant Capacity // *Molecules*. – 2021. – №26(13). – 3793 (DOI: 10.3390/molecules26133793).
7. Prommaban A., et al. Evaluation of Fatty Acid Compositions, Antioxidant, and Pharmacological Activities of Pumpkin (*Cucurbita moschata*) Seed Oil from Aqueous Enzymatic Extraction // *Plants*. – 2021. – №10. – 1582 (DOI: 10.3390/plants10081582).
8. Tan B., Norhaizan M. Carotenoids: How Effective Are They to Prevent Age-Related Dis-

- eases? // *Molecules*. – 2019. – №24. – 1801 (DOI: 10.3390/molecules24091801).
9. Saha S., et al. *Indazole Derivatives Effective against Gastrointestinal Diseases* // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2022. – №22(14). – P. 1189–1214.
 10. Belmehdi O., et al. *Anticancer properties and mechanism insights of α -hederin* // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2023. – №165. – 115205 (DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115205).
 11. Purushothaman A., et al. *Antioxidant activity of caffeic acid: thermodynamic and kinetic aspects on the oxidative degradation pathway* // *Free Radic. Res.* – 2022. – №56(9–10). – P. 617–630.
 12. База данных химических соединений и смесей // *PubChem*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 24.08.2023).
 13. Государственная фармакопея РФ XV издания // *Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств*. URL: <https://pharmасороеia.regmed.ru/> (дата обращения: 10.09.2023).
 14. Рудь Н.К. *Разработка технологии получения сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной* // Н.К. Рудь, А.М. Сампиев // *Научное обозрение*. – 2015. – №5. – С. 66–73.
 15. Программные средства хемоинформатики // *Molinspiration Cheminformatics*. URL: <https://www.molinspiration.com/> (дата обращения: 24.08.2023).
 16. Оценка биологической активности // *Way2Drug*. URL: <https://www.way2drug.com/PassOnline> (дата обращения: 24.08.2023).
 17. Алыкова Т.В., Алыков Н.М., Асанова Д.Р., Салмахаева А.М. *Создание и изучение энтеросорбентов с жесткофиксированными антиоксидантами, обладающими ферментативными свойствами* // *Межвузовский сборник научных статей «Научный потенциал регионов на службу модернизации»*. – Астрахань: ГАОУ АО ВПО «АИСИ», 2012. – №2(3). С. 56–60.

STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF NIGELLA SATIVA IN SILICO AND IN VITRO STUDIES

N.A. Davitavyan, E.B. Nikiforova, Yu.A. Pogulyaj

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

The work studied the antioxidant activity of biologically active substances in Nigella sativa seeds by in silico and in vitro studies. Tests have shown that nigella seeds and products based on them can be considered as a promising source of exogenous antioxidants, potentially in demand for the development of drugs for the prevention and treatment of degenerative and/or chronic diseases.

Keywords: *Nigella sativa*, black cumin oil, supercritical carbon dioxide extracts, Molinspiration chemoinformatic software, PASS-online

УДК 615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.25.53.003>

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕЛЛАМУРИНА В ЛИСТЬЯХ БАРХАТА

А.И. Радимич, старший научный сотрудник отдела химии природных соединений, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Г.В. Адамов, канд. фарм. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории атомарно-молекулярной биорегуляции и селекции, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

О.Ю. Куляк, канд. фарм. наук, ведущий научный сотрудник химии природных соединений, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

О.Л. Сайбель, доктор фарм. наук, руководитель Центра химии и фармацевтической технологии, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Т.Д. Даргаева, доктор фарм. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела химии природных соединений, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Одним из основных условий обеспечения качества лекарственных средств является использование современных физико-химических методов анализа для качественного и количественного определения действующих веществ. Согласно ВФС 42-1972-90 «Лист бархата», для оценки содержания фелламурина (феллавина) в данном сырье используется метод спектрофотометрии. Однако этот метод характеризуется недостаточной избирательностью для анализа индивидуального вещества в присутствии других близкородственных соединений и может приводить к получению завышенных результатов количественного определения. Целью настоящей работы явилась разработка и валидация методики количественного определения фелламурина в данном сырье с использованием ВЭЖХ-УФ. В результате проведенных исследований подобраны оптимальные условия анализа, разработана мето-

дика количественного определения фелламурина в листьях бархата и проведена ее валидация по показателям: специфичность, линейность, правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность. С использованием данной методики проанализированы опытные партии листьев бархата и предложена норма содержания фелламурина не менее 1,5%. Результаты проведенных исследований включены в проект новой редакции нормативного документа ФС «Бархата листья».

Ключевые слова: бархат амурский, листья, фелламурин, ВЭЖХ, валидация

Современные требования к качеству лекарственных средств определяют необходимость разработки точных, достоверных и воспроизводимых методик их стандартизации. Среди разнообразия существующих в настоящее

время аналитических инструментов исследователи все чаще отдают предпочтение физико-химическим методам [1,2].

Для оценки содержания суммы биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье и препаратах на его основе широко используется метод спектрофотометрии. В свою очередь, для качественного и количественного анализа индивидуальных веществ наиболее оптимальным выбором являются хроматографические методы (ВЭЖХ, ГЖХ) с различными вариантами детектирования [3].

Согласно ВФС 42-1972-90 «Лист бархата», стандартизация данного лекарственного растительного сырья проводится методом спектрофотометрии по содержанию фелламурина (феллавина). При этом измерение оптической плотности при аналитической длине волны учитывает не только вклад основного вещества – фелламурина, но и близкородственных соединений, имеющих аналогичное поглощение, что может приводить к получению завышенных результатов количественного определения [4].

Учитывая, что листья бархата служат сырьем для получения «Флакозида», представляющего собой фармацевтическую субстанцию с содержанием основного вещества (фелламурина) не менее 96%, для получения достоверных результатов анализа в данном случае в качестве метода анализа целесообразно использование ВЭЖХ-УФ [5].

В связи с этим в рамках актуализации ВФС 42-1972-90 «Лист бархата» для включения в Государственную фармакопею XV издания **целью** настоящей работы явилась разработка и валидация методики количественного определения фелламурина в данном сырье с использованием ВЭЖХ-УФ-анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили опытные партии листьев бархата амурского (*Phello-*

dendron amurense Rupr. синонимы: *Ph. lavalleyi* Dode, *Ph. sachalinense* Sarg.), заготовленные в 2020–2022 гг. от дикорастущих (Приморский край) и интродуцированных (Брянская и Рязанская области, Краснодарский край) растений.

В работе использовали следующее оборудование: высокоэффективный жидкостный хроматограф Prominence-i LC-2030C 3D с детектором PDA (Shimadzu, Япония), весы электронные аналитические ER-182A (AND, Япония), анализатор влажности ML-50 (AND, Япония); и реактивы: ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ (ТУ 20.14.43-017-29483781-2018, ООО «ТД Химмед»), кислота муравьиная (BCBQ0065V, Fluka), вода очищенная (ГФ РФ ФС 2.2.0020.18).

Приготовление раствора стандартного образца (СО) фелламурина (ФСО.2.1.00002 Глюкопиранозидметилбутенилтригидроксифлаванол): около 0,0360 г (точная навеска) стандартного образца фелламурина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 50 мл спирта этилового 40% и перемешивают до полного растворения. Объем раствора доводят тем же растворителем до метки (раствор СО).

Приготовление испытуемого раствора (ИР). Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл спирта этилового 40%. Колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г. Присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 минут с момента растворителя. Колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят растворителем до первоначальной массы, перемешивают. Извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр «синяя лента».

Условия хроматографирования: колонка Phenomenex, Luna 5 μm C18 (250 \times 4,6 мм), подвижная фаза (ПФ): ПФ «А» – 0,2% раствор

муравьиной кислоты в воде, ПФ «В» – 0,2% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле; режим элюирования: содержание компонента «В» 0 мин. – 25%, 14,0 мин. – 25%, 14,5 мин. – 100%, 16,5 мин. – 100%, 20,0 мин. – 25%, 24,0 мин. – остановка анализа, скорость потока, 1,0 мл/мин, Температура термостата 30°C, Детектор – диодная матрица (длина волны 290 нм), объем пробы – 10 мкл, время хроматографирования – 24 мин.

Хроматографическая система считается пригодной, если:

- относительное стандартное отклонение площади пика фелламурина после пяти повторных введений раствора СО – не более 2,0%;

- относительное стандартное отклонение времени удерживания пика фелламурина после пяти повторных введений раствора СО – не более 2,0%;
- фактор асимметрии пика фелламурина на хроматограмме раствора СО не более 1,5, эффективность хроматографической колонки не менее 5000 т.т.

Содержание фелламурина (X) в процентах рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 1 \cdot P \cdot (100 - W_{CO})}{S_0 \cdot a \cdot (100 - W_x)}$$

где S – площадь пика фелламурина на хроматограмме испытуемого раствора; a₀ –

Таблица 1

ВАЛИДАЦИОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ, МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ И КРИТЕРИИ ИХ ПРИЕМЛЕМОСТИ

№ п/п	Наименование параметра	Методика определения	Критерий приемлемости
2	Специфичность	Проводят анализ стандартного раствора и испытуемого раствора	Совпадение времен удерживания пика фелламурина на хроматограмме ИР и СО с точностью не менее 99,0%
3	Линейность	Анализируют 5 растворов стандартного образца на всем диапазоне методики	Значение коэффициента корреляции калибровочной зависимости в диапазоне 80–120% должно быть не менее 0,995
4	Правильность	Проводят анализ 9 растворов модельной смеси на всем диапазоне методики	Соотношение «найдено/введено» должно составлять 100±2%
5	Повторяемость	Проводят анализ шести растворов одной серии сырья	Относительное стандартное отклонение содержания фелламурина в сырье не должно превышать 10,0%
6	Внутри-лабораторная прецизионность	Проводят анализ другим аналитиком в другой день той же серии сырья	Разница измерений не должна превышать 10%
7	Аналитическая область	Определение правильности, линейности и прецизионности аналитической методики	Правильность, линейность и прецизионность должны быть установлены внутри аналитического диапазона

навеска СО фелламурина, г; S_0 – площадь пика фелламурина на хроматограмме СО фелламурина; P – содержание основного вещества в СО фелламурина, %; W_{CO} – влажность СО фелламурина, %; a – масса навески испытуемого образца, г; W_x – влажность сырья, %.

Валидацию методики количественного определения фелламурина в листьях бархата проводили согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [3]. Валидационные параметры, методики их определения и критерии приемлемости представлены в табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для уточнения оптимальных условий извлечения фелламурина из листьев бархата были проведены исследования по влиянию экстрагента и температуры экстракции на выход целевого вещества из сырья (табл. 2).

В результате было установлено, что наибольшее количество фелламурина извлекается при экстракции сырья спиртом этиловым 40% при нагревании на кипящей водяной бане.

В ходе дальнейших исследований была подобрана система растворителей и режим элюирования, позволяющий проводить количественное определение фелламурина в присутствии других метаболитов данного сырья.

На основании подобранных условий была предложена методика количественного определения фелламурина в листьях бархата, описанная в разделе «Материалы и методы».

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям: специфичность, аналитический диапазон, линейность, правильность, воспроизводимость (сходимость) и внутрилабораторная прецизионность.

Предварительно для проверки пригодности хроматографической системы получили 5 хроматограмм раствора СО. Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику фелламурина, составила 10156 т.т.; фактор асимметрии пика фелламурина – 1,2; относительное стандартное отклонение (RSD) площади пика фелламурина – 0,1%, времени удерживания – 0,28%.

Оценка специфичности показала, что среднее время удерживания фелламурина на хроматограмме СО – 13,15 мин., испытуемого

Таблица 2

ЗАВИСИМОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ФЕЛЛАМУРИНА ОТ ЭКСТРАГЕНТА И ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА ЭКСТРАКЦИИ ЛИСТЬЕВ БАРХАТА

Экстрагент	Содержание фелламурина, %	
	Экстракция при комнатной температуре	Экстракция на кипящей водяной бане
Спирт этиловый 20%	1,60±0,05	1,85±0,03
Спирт этиловый 30%	1,65±0,06	1,87±0,09
Спирт этиловый 40%	1,53±0,02	1,87±0,06
Спирт этиловый 50%	1,17±0,04	1,61±0,06
Спирт этиловый 60%	0,97±0,03	1,48±0,04
Спирт этиловый 70%	0,90±0,04	1,44±0,07

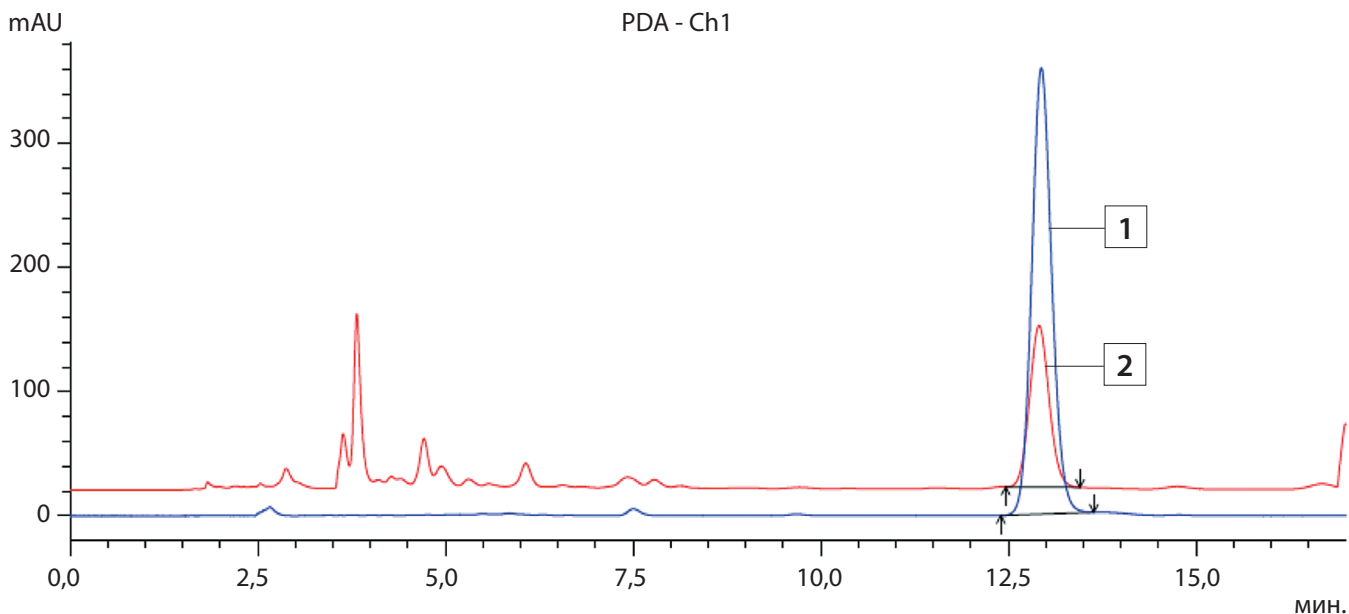


РИС. 1. ВЭЖХ-хроматограмма (290 нм) раствора СО фелламурина (1) и испытуемого раствора (2)

раствора – 13,12 мин. (рис. 1). Совпадение времен удерживания на хроматограммах стандартного и испытуемого раствора составило 99,8%.

Согласно установленным требованиям, правильность, линейность и прецизионность методики должны быть установлены внутри аналитического диапазона, составляющего 80–120% от предельных значений.

В проекте ФС «Бархата листья» содержание фелламурина нормируется на уровне не менее 1,5%, при этом концентрация фелламурина в испытуемом растворе будет составлять 150 мкг/мл. Максимальное содержание фелламурина в листьях бархата, установленное по результатам анализа опытных партий различных годов и мест заготовки, составляло 4,50%. С учетом возможного превышения данного порога валидация методики проводилась до уровня 6,0%, что составит 600 мкг/мл в испытуемом растворе. При соблюдении требований к установлению аналитического диапазона в области концентраций 80–120% от предельных значений для данной методики он будет составлять 120–720 мкг/мл.

Линейность методики определяли путем анализа пяти растворов с концентрацией фелламурина от 102,01 до 700,05 мкг/мл. График зависимости площади пика от концентрации фелламурина представлен на рис. 2. Значение коэффициента корреляции равно 0,99998.

Для оценки правильности готовили модельные смеси с концентрациями, соответ-

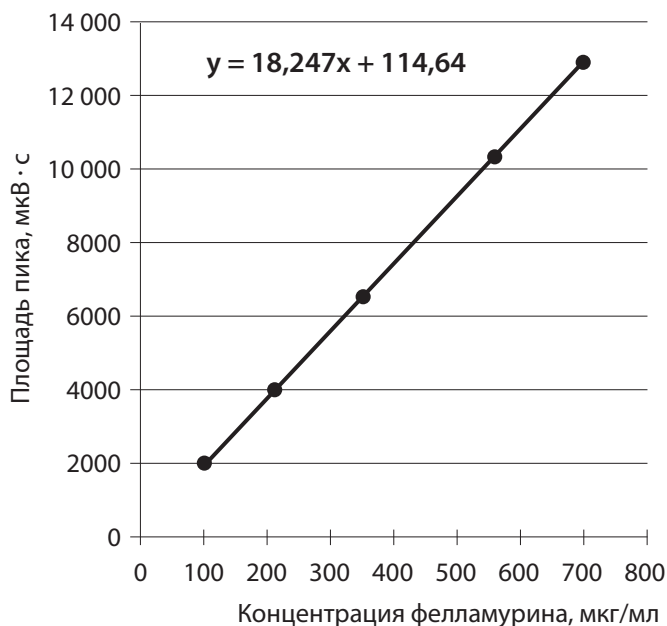


РИС. 2. График зависимости площади пика от концентрации раствора фелламурина

ствующими различным точкам аналитического диапазона. Поскольку приготовить модельную смесь, не содержащую целевое вещество, не представляется возможным, то в качестве матрицы использовали извлечение, полученное согласно методике, но с уменьшением навески сырья в 2 раза. Модельные смеси готовили смешиванием извлечения (И) и раствора с концентрацией фелламурина 700,0 мкг/мл (Р) по схеме, представленной в табл. 3. Растворы готовили в мерной колбе объемом 25 мл, доводили до метки спиртом этиловым 40%. Опыт проводили в трех повторностях.

Фактическую концентрацию фелламурина рассчитывали исходя из его содержания в извлечении и объема добавки раствора Р.

Найденные концентрации рассчитывали на основе измеренных значений. При этом площадь пика фелламурина определяли как разницу между площадями пиков на хрома-

тограммах модельной смеси с добавкой и исходного извлечения без добавки. Результаты оценки правильности приведены в табл. 4. Среднее отношение фактическая/найденная составило 100,1%.

Повторяемость оценивали путем анализа шести извлечений, приготовленных, согласно методике, из образца одной партии сырья, заготовленной в Брянской области в 2022 г. Среднее содержание фелламурина по результатам шести измерений составило 2,1%. Относительное стандартное отклонение по результатам шести измерений 6,89% (табл. 5).

Для определения внутрилабораторной прецизионности проводили анализ другим аналитиком в другой день трех образцов той же серии сырья согласно методике. Среднее содержание фелламурина по результатам трех измерений составило 2,2%. Разница между аналитиками – 4,8%.

Таблица 3

СХЕМА ПРИГОТОВЛЕНИЯ МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРАВИЛЬНОСТИ

№ п/п	Модельная смесь	Площадь пика фелламурина, мкВ · с	Концентрация добавки фелламурина фактическая, мкг/мл
1-0	Раствор И-1	588 817	0
1-1	5 мл раствора И-1 + 1,5 мл раствора Р	1 390 272	42,0
1-2	5 мл раствора И-1 + 10 мл раствора Р	5 747 767	280,0
1-3	5 мл раствора И-1 + 20 мл раствора Р	11 089 643	560,0
2-0	Раствор И-2	550 631	0
2-1	5 мл раствора И-2 + 1,5 мл раствора Р	1 341 237	42,0
2-2	5 мл раствора И-2 + 10 мл раствора Р	5 735 163	280,0
2-3	5 мл раствора И-2 + 20 мл раствора Р	10 961 198	560,0
3-0	Раствор И-3	572 900	0
3-1	5 мл раствора И-3 + 1,5 мл раствора Р	1 366 037	42,0
3-2	5 мл раствора И-3 + 10 мл раствора Р	5 767 912	280,0
3-3	5 мл раствора И-3 + 20 мл раствора Р	11 010 291	560,0
	Раствор СО	6 540 478	–

Таблица 4

РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИКИ

№ п/п	Площадь пика фелламурина, мкВ · с, за вычетом площади пика извлечения	Концентрация фелламурина в модельной смеси фактическая, мкг/мл	Концентрация фелламурина в модельной смеси найденная, мкг/мл	Отношение фактическая/найденная, %
1–0	801 455	42,0	42,8	98,1
1–1	5 158 950	280,0	275,7	101,6
1–2	1 050 0826	560,0	561,2	99,8
2–0	790 606	42,0	42,3	99,4
2–1	5 184 532	280,0	277,1	101,1
2–2	10 410 567	560,0	556,4	100,7
3–0	793 137	42,0	42,4	99,1
3–1	5 195 012	280,0	277,6	100,9
3–2	10 437 391	560,0	557,8	100,4

Таким образом, все значения аналитических параметров соответствовали критериям приемлемости и свидетельствовали о пригодности разработанной методики для анализа содержания фелламурина в листьях бархата.

С помощью данной методики были проанализированы опытные партии сырья разных мест и годов заготовки.

Согласно ВФС 42-1972-90 «Лист бархата», норма содержания фелламурина составляла

не менее 2,5%. Однако ввиду того, что использованный нами метод ВЭЖХ-УФ является более селективным по сравнению со спектрофотометрией, то при актуализации данного нормативного документа следует уменьшить его до значения не менее 1,5%. Установление такой нормы подтверждено результатами анализа опытных партий сырья, заготовленных как от дикорастущих (Приморский край), так и от культивируемых (Брянская

Таблица 5

РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПОВТОРЯЕМОСТИ

№ пробы	Площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора, мкВ · с	Масса навески сырья, г	Содержание фелламурина в испытуемом образце, %
1	3 514 910	0,9815	2,1
2	3 547 620	0,9968	2,0
3	3 347 357	0,9785	2,0
4	3 549 401	1,0021	2,0
5	4 066 947	1,0083	2,3
6	4 079 679	1,0150	2,3

Таблица 6

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ОПЫТНЫХ ПАРТИЙ ЛИСТЬЕВ БАРХАТА

Место, месяц и год заготовки	Содержание фелламурина, %
Краснодарский край, август 2020 г.	1,70±0,07
Рязанская область, сентябрь 2020 г.	4,50±0,18
Приморский край, сентябрь 2020 г.	2,19±0,09
Приморский край, июль 2021 г.	3,35±0,10
Брянская область, август 2021 г.	1,87±0,08
Брянская область, август 2022 г.	2,52±0,51
Приморский край, июль 2022 г.	3,25±0,09

и Рязанская области, Краснодарский край) растений.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований подобраны оптимальные условия анализа и разработана методика количественного определения фелламурина в листьях бархата.

Проведенная валидация позволила охарактеризовать ее положительно по основным аналитическим показателям: специфичность, линейность, правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность.

На основании результатов анализа опытных партий сырья с использованием разработанной методики скорректирована норма содержания фелламурина.

Разработанная методика включена в проект новой редакции ФС «Бархата листья».

Исследования проведены согласно плану научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме «Фитохимическое обоснование ресурсосберегающих технологий переработки лекарственного растительного сырья и рационального использования биологически активных веществ растительного происхождения» (FGUU-2022-0011).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Марахова А.И., Сорокина А.А., Жилкина В.Ю. Физико-химические методы в анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на растительной основе / Монография. – Москва: Типография «Ваш формат», 2017. – С. 308.
2. Саканян Е.И., Бунятян Н.Д., Сакаева И.В., Лякина М.Н., Шемерянкина Т.Б., Постюк Н.А., Рукавицына Н.П. Современные подходы к структуре построения фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье // Фармация. – 2015. – Т. 64(4). – С. 9–11.
3. Государственная фармакопея XIV издания [Электронный ресурс]. – М., 2018. – Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (Дата обращения 27.02.2023).
4. ВФС 42-1972-90 «Лист бархата».
5. Карабаева В.В., Крепкова Л.В., Бабенко А.Н., Бортникова В.В., Фатеева Т.В., Мизина П.Г., Михеева Н.С., Карабаева О.Н. Ретроспективный анализ экспериментального и клинического изучения флакозида при вирусных гепатитах // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10(4). – С. 169–176. DOI:10.33380/2305-2066-2021-10-4-169-176.

IMPROVEMENT OF METHODOLOGY FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHELLAMURIN IN PHELLODENDRONI LEAVES

A.I. Radimich, G.V. Adamov, O.Yu. Kulyak, O.L. Saybel, T.D. Dargaeva

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (FGBNU VILAR), Moscow, Russia

One of the main conditions for ensuring the quality of medicines is the use of modern physicochemical methods of analysis for qualitative and quantitative determination of active substances. According to pharmacopoeial article VFS 42-1972-90 "Phellodendroni leaf" to assess the content of phellamurin (phellavin) in this raw material is used spectrophotometric method. However, this method is characterized by insufficient selectivity for the analysis of an individual substance in the presence of other closely related compounds and can lead to overestimated results of quantification. The aim of the present work was to develop and validate a method for the quantitative determination of phellamurin in this raw material using HPLC-UV. As a result of the conducted studies, the optimal conditions of analysis were selected and the technique for quantitative determination of phellamurin in phellodendroni leaves was developed and its validation was carried out in terms of specificity, linearity, correctness, repeatability and in-laboratory precision. Using this methodology, experimental batches of phellodendroni leaves were analyzed and the norm of phellamurin content of not less than 1.5% was proposed. The results of the conducted research are included in the draft of the new edition of the normative document "Phellodendroni leaves".

Keywords: *Phellodendron amurense* Rupr, leaves, phellamurin, HPLC, validation

УДК 615.322:615.246.2

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.77.92.004>

СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДОВ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ ШИШЕК

Д.К. Гуляев, доцент кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, dkg2014@mail.ru

В.Д. Белоногова, зав. кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, belonogovavd@yandex.ru

Из пихты сибирской шишек получены полисахаридные фракции. Моносахаридный состав определяли восходящей хроматографией на бумаге. Содержание полисахаридов определяли модифицированным методом Дрейвуда. Сорбционную активность полисахаридов определяли по метиленовому синему и альбумину, в качестве препаратов сравнения использовали уголь активированный и полисорб. Водорастворимые полисахариды шишек пихты состоят из галактуроновой кислоты и ксилозы. В составе пектина же обнаружены галактуроновая кислота и рамноза. В шишках пихты в большом количестве содержатся пектиновые вещества. Водорастворимые полисахариды пихты сибирской шишек обладают выраженной сорбционной активностью. Наблюдается обратная зависимость молекулярной массы полисахарида и его сорбционной активности.

Ключевые слова: пихта сибирская, шишки, полисахариды, сорбционная активность, молекулярная масса

Пихта сибирская (*Abies sibirica*) – крупное вечнозеленое хвойное дерево семейства сосновых – *Pinaceae* – с пирамидально-конусовидной кроной. Пихта сибирская – одна из главных лесобразующих пород таежной

зоны европейской части России, а также Западной и Восточной Сибири.

Отходы лесозаготовок в виде шишек и древесной зелени, оставленные на вырубках, приводят к снижению эффективности использования лесных ресурсов, загрязнению окружающей среды, что вызывает необходимость проведения исследований данного сырья.

Растительные полисахариды, включая полисахариды шишек хвойных растений, являются перспективной группой биологически активных веществ, обуславливающей многие виды фармакологической активности, в том числе способность связывать токсические вещества [1–4].

Растительные полисахариды рассматриваются не только в качестве эффективных сорбентов, но и в качестве веществ, которые стимулируют рост полезной микрофлоры кишечника и ограничивают размножение патогенных бактерий [5].

Полисахариды, полученные из шишек других видов семейства сосновых, показывают высокую сорбционную активность по способности связывать метиленовый синий [6]. Это говорит об актуальности исследования полисахаридных фракций пихты сибирской шишек.

Цель работы – исследование состава, содержания и сорбционной активности полисахаридов пихты сибирской шишек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы шишек пихты сибирской были собраны в сентябре 2021 года на территории Ильинского района Пермского края в темнохвойном лесу. Сбор шишек проводили с 15 деревьев, при дальнейшем исследовании проба усреднялась методом квартования. Сырье до исследования высушивали воздушно-теплым способом. После сушки семена отделяли и использовали для исследования шишки без семян.

Полисахаридные фракции пихты сибирской шишек получали по методике, основанной на известной схеме разделения углеводов по Бэйли с соавторами [7].

Для определения моносахаридного состава выделенных фракций проводили их кислотный гидролиз раствором серной кислоты 1% при нагревании в течение 8 часов. Моносахаридный состав гидролизатов определяли с помощью восходящей хроматографии на бумаге в системе растворителей «бутанол – пиридин – вода» (6:4:3). Хроматограммы обрабатывали анилинфталатным реактивом, проявляли в сушильном шкафу при температуре 100–105°C до появления окраски.

Определение содержания групп углеводов проводили спектрофотометрически – модифицированным антрон-серным методом Дрейвуда [8].

Определение содержания водорастворимых полисахаридов (ВРПК). Навеску около 10 г (точная навеска) воздушно-сухого сырья, измельченного до размера частиц 2 мм, экстрагировали спиртом этиловым 90% в аппарате Сокслета в течение 1,5 часа для удаления низкомолекулярных сахаров. Остаток сырья после спиртовой экстракции обрабатывали водой очищенной дважды по 100 мл при нагревании около 100°C в течение 1 часа на водяной бане. Извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 200 мл и доводили до метки тем же экстрагентом (раствор А1).

2 мл раствора А1 переносили в центрифужную пробирку, прибавляли 8 мл 95% спирта этилового, перемешивали и нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения содержимое пробирки центрифугировали в течение 10 мин. со скоростью вращения 3000 оборотов в минуту. Надосадочную жидкость сливали, а осадок продували в пробирке горячим воздухом до удаления следов этанола. К осадку приливали 4 мл 0,2% раствора антрона в кислоте серной концентрированной и нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 мин. Содержимое пробирки после охлаждения переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл 95% спиртом этиловым и доводили до метки тем же растворителем (раствор Б1).

Определение содержания пектиновых веществ (ПВ). Остаток сырья после водной экстракции обрабатывали смесью 0,25% растворов кислоты щавелевой и аммония оксалата в соотношении 1:1 трижды по 80 мл в течение 1,5 часа. Далее анализ проводили по схеме для ВРПК (растворы А2 и Б2).

Оптическую плотность растворов Б измеряли на спектрофотометре при длинах волн 430 (раствор Б1) и 424 (раствор Б2) нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 4 мл 0,2% раствора антрона в кислоте серной концентрированной, выдержанного в тех же условиях, что и опытная смесь. Содержание групп углеводов (X, %) в пересчете на доминирующий моносахарид и абсолютно сухое сырье рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A \times k^V \times 0,91}{m \times E} \times \frac{100}{100 - W},$$

где А – оптическая плотность исследуемого раствора; k^V – коэффициент разбавления (2500 – ВРПК, 5000 – ПВ); 0,91 – коэффициент гидролиза; E – коэффициент пересчета на моносахарид (Ara – 67, Frc – 423, Gal – 224,

GalUA – 214, Glu – 358, Xyl – 455); m – масса навески сырья, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Определение сорбционной активности по метиленовому синему проводили по методике Решетникова В.И. [9]. Около 0,2 г полисахаридов (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляли 50 мл 0,15% раствора метиленового синего и перемешивали на лабораторном шейкере с числом колебаний 140 в минуту в течение 1 часа. Отделение равновесного раствора после сорбции проводили путем центрифугирования при 8000 оборотов в минуту. Один миллилитр надосадочной жидкости переносили в мерную колбу объемом 500 мл и доводили до метки водой очищенной. Далее измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ 2000 при 664 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную.

Расчет показателя сорбционной активности проводили по общепринятой формуле:

$$X = \frac{(A_0 - A) \times a \times 50}{A_0 \times b \times (1 - 0,01 \times W)},$$

где A_0 – оптическая плотность раствора РСО метиленового синего; A – оптическая плотность испытуемого раствора; a – фактическая концентрация раствора РСО метиленового синего мг/мл; b – навеска вещества в граммах; 50 – объем раствора РСО метиленового синего, мл; W – влажность вещества в процентах.

Определение сорбционной активности по альбумину проводили по методике, изложенной в монографии Решетникова В.И. [3].

Определение молекулярной массы проводили вискозиметрическим методом [10]. Вязкость полимера определяли капиллярным вискозиметром Оствальда. Измеряли время истечения равных объемов растворителя и раствора от верхней до нижней метки

измерительного шарика капилляра вискозиметра при заданной постоянной температуре.

Для расчета молекулярной массы пользовались нелинейным уравнением Марка – Куна – Хувинка, выражающим зависимость характеристической вязкости от молекулярной массы:

$$[\eta] = KM^\alpha$$

где K и α – константы для данной системы «полимер – растворитель» при определенной температуре. Обычно в зависимости от природы растворителя величина α , определяющая степень свернутости макромолекулы, колеблется в пределах 0,5...0,8.

Статистическая обработка полученных результатов исследования проводилась с помощью программы Microsoft Excel. Для сравнения результатов анализа использовали критерий Стьюдента с оценкой достоверности отличий ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Моносахаридный состав полученных полисахаридов шишек пихты сибирской определяли после гидролиза серной кислотой 2%. Преимущества использования растворов серной кислоты заключаются в эффективном расщеплении гликозидных связей при сравнительно малых температурах – около 23°C [11]. Результаты представлены на рис. 1.

Согласно приведенной хроматограмме, установлено, что в водорастворимом полисахаридном комплексе идентифицированы галактуроновая кислота и ксилоза. В пектине же обнаружены галактуроновая кислота и рамноза. Такие сахара, как арабиноза и галактоза, в наших исследуемых образцах не обнаружены.

Следующим этапом исследования было определение содержания ВРПК и ПВ в образцах пихты сибирской шишек.

Таблица 1

**СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ
ПОЛИСАХАРИДОВ ШИШЕК ПИХТЫ
СИБИРСКОЙ ПО МЕТИЛЕНОВОМУ СИНЕМУ**

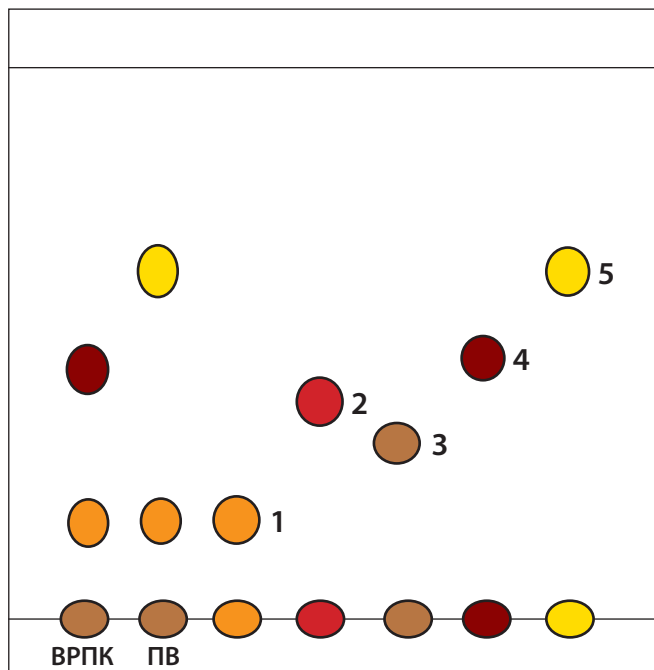


РИС. 1. Схема хроматограммы полисахаридов пихты сибирской шишек: 1 – галактурановая кислота ($R_f=0,10$), 2 – арабиноза ($R_f=0,37$), 3 – галактоза ($R_f=0,30$), 4 – ксилоза ($R_f=0,48$), 5 – рамноза ($R_f=0,64$)

В результате определения содержания полисахаридных фракций в шишках пихты сибирской установлено большое количество пектиновых веществ: ВРПК – $1,62 \pm 0,19\%$, а ПВ – $2,84 \pm 0,18\%$.

По результатам исследования установлено, что полисахаридные фракции шишек пихты сибирской проявляют выраженную сорбционную активность (табл. 1). Водорастворимый полисахаридный комплекс шишек пихты сибирской проявляет наибольшую сорбционную активность, достоверно превышающую активность препаратов сравнения – угля активированного и полифепана. Пектиновые вещества шишек пихты сибирской работают на уровне препаратов сравнения.

Полисахаридные фракции пихты сибирской шишек показали высокую активность по связыванию токсинов со средней молекулярной массой. Представляло интерес определить способность исследуемых полисахаридов связывать токсины белковой природы.

Вещество	Сорбционная активность, мг/г
ВРПК пихты сибирской шишек	$303,89 \pm 8,89^{*1*2}$
ПВ пихты сибирской шишек	$239,22 \pm 15,16$
Уголь активированный	$230,9 \pm 2,34$
Полифепан	$250,48 \pm 5,78$

Примечания: ^{*1} По отношению к углю активированному (t-test) – t-критерий Стьюдента $p < 0,05$.
^{*2} По отношению к полифепану (t-test) – t-критерий Стьюдента $p < 0,05$

По результатам исследования установлено, что водорастворимый полисахаридный комплекс шишек пихты сибирской обладает выраженной сорбционной активностью (табл. 2) по способности связывать белки. Сорбционная активность ВРПК шишек пихты достоверно превышает активность препарата сравнения. Пектин шишек пихты сибирской не обладает способностью сорбировать вещества белковой природы.

Таблица 2

**СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ
ПОЛИСАХАРИДОВ ШИШЕК ПИХТЫ
СИБИРСКОЙ ПО АЛЬБУМИНУ**

Вещество	Сорбционная активность, мг/г
Пектин	$73,41 \pm 21,7$
ВРПК	$855,46 \pm 23,48^*$
Полисорб (препарат сравнения)	$328,14 \pm 32,74$

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к препарату сравнения

Таблица 3

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ**

Вещество	Характеристическая вязкость	Молекулярная масса
ПВ	0,75	10627,86
ВРПК	0,251	4270,20

Сорбционная активность ВРПК и ПВ пихты сибирской шишек различается, также различается и состав полисахаридов. Кроме моносахаридного состава, сорбционная активность может зависеть от молекулярной массы полисахаридов.

По результатам исследования (табл. 3) установлено, что пектиновые вещества шишек пихты сибирской имеют молекулярную массу выше, чем у водорастворимого полисахаридного комплекса.

ВЫВОДЫ

По результатам исследования установлено, что в водорастворимом полисахаридном комплексе обнаружены галактуроновая кислота и ксилоза. В пектине же обнаружены галактуроновая кислота и рамноза. Водорастворимый полисахаридный комплекс шишек пихты сибирской проявляет наибольшую сорбционную активность, достоверно превышающую активность препаратов сравнения, по метиленовому синему и альбумину. Наблюдается обратная зависимость молекулярной массы полисахарида и его сорбционной активности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Zhan Y., An X., Wang S., Sun M., Zhou H. *Basil polysaccharides: A review on extraction,*

bioactivities and pharmacological applications // Bioorg. Med. Chem. 2020; 28(1): 115179. DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115179.

2. Xu R.B., Yang X., Wang J., Zhao H.T., Lu W.H., Cui J., Cheng C.L., Zou P., Huang W.W., Wang P., Li W.J., Hu X.L. *Chemical Composition and Antioxidant Activities of Three Polysaccharide Fractions from Pine Cones // Int.J. Mol. Sci.* 2012; (13): 14262–14277. DOI: 10.3390/ijms131114262.

3. Zou P., Yang X., Huang W.W., Zhao H.T., Wang J., Xu R.B., Hu X.L., Shen S.Y., Qin D. *Characterization and bioactivity of polysaccharides obtained from pine cones of Pinus koraiensis by graded ethanol precipitation // Molecules.* 2013; 18: 9933–9948. DOI: 10.3390/molecules18089933.

4. Zhao Q., Qin J., Wang H., Wang J., Zhang X. *Effects of different extraction methods on the properties of pine cone polysaccharides from Pinus koraiensis // BioRes.* 2019; 14(4): 9945–9956. DOI: 10.15376/biores.14.4.9945-9956.

5. Grimaldi R., Swann J.R., Vulevic J., Gibson G.R., Costabile A. *Fermentation properties and potential prebiotic activity of Bimuno galacto-oligosaccharide (65% galacto-oligosaccharide content) on in vitro gut microbiota parameters // British Journal of Nutrition.* 2016; (116): 480–486. DOI: 10.1017/S0007114516002269.

6. Гуляев Д.К., Суменкова А.М., Белоногова В.Д., Рудакова И.П., Курицын А.В. *Сорбционная активность полисахаридов древесной зелени и шишек сосны обыкновенной // Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2020; 19(3): 208–213. DOI: 10.37903/vsgma.2020.3.29.

7. Bailey R.W., Haq S., Hassid W.Z. *Carbohydrate composition of particulate preparations from mung bean (Phaseolus aureus) shoots // Phytochemistry.* 1967; 6(2): 293–301.

8. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. *Методика количественного определения группового*

- состава углеводного комплекса растительных объектов // *Химия растительного сырья*. 2006; (4): 29–33.
9. Решетников В.И. Принципы разработки лекарственных форм сорбентов. – Пермь: ГОУ ВПО ПГФА Росздрави, 2008. – 196 с.
10. Карибова Т.Г., Аджиахметова С.Л., Мычко Л.П., Оганесян Э.Т. Некоторые физико-химические характеристики полисахаридов ягод крыжовника отклоненного *Grossularia reclinata* (L.) MILL. // *Фармация и фармакология*. 2015; 10(3): 49–52.
11. Nejat-zadeh-Barandozi F., Tahmasebi S. FT-IR study of the polysaccharides isolated from the skin juice, gel juice, and flower of Aloe vera tissues affected by fertilizer treatment // *Organic and Medicinal Chemistry Letters*. 2012; (2): 33–42. DOI: 10.1186/2191-2858-2-33.

SORPTION ACTIVITY OF POLYSACCHARIDES OF SIBERIAN FIR CONES

D.K. Gulyaev, V.D. Belonogova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Polysaccharide fractions were obtained from Siberian fir cones. The monosaccharide composition was determined by ascending chromatography on paper. The content of polysaccharides was determined by the modified Draywood method. The sorption activity of polysaccharides was determined by methylene blue and albumin, activated carbon and polysorb were used as comparison preparations. Water-soluble polysaccharides of fir cones consist of galacturonic acid and xylose. Galacturonic acid and rhamnose were found in the composition of pectin. Fir cones contain pectin substances in large quantities. Water-soluble polysaccharides of Siberian fir cones have a pronounced sorption activity. The inverse dependence of the molecular weight of the polysaccharide and its sorption activity is observed.

Keywords: Siberian fir, cones, polysaccharides, sorption activity, molecular weight

УДК 615.453.6

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.46.66.005>

РАЗРАБОТКА СОСТАВА ТАБЛЕТОК ГМЛ-3, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ВЛАЖНОГО ГРАНУЛИРОВАНИЯ

В.Б. Маркеев, науч. сотрудник 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

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

Л.М. Гаевая, доктор фарм. наук ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», г. Москва

Разработанный на базе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» ГМЛ-3 лишен большинства побочных эффектов бензодиазепинов, в том числе диазепам. Разработка таблеток ГМЛ-3 является перспективной задачей, однако его неудовлетворительные фармацевтико-технологические свойства являются проблемой. В статье показана разработка состава и технологии таблеток ГМЛ-3. Модельные составы оценивались с помощью теста «Растворение». В качестве технологии выбрана влажная грануляция, так как полученные таблеточные массы обладали хорошей сыпучестью и обеспечивала однородность дозирования АФС ГМЛ-3. Оптимальным наполнителем являлась смесь лактозы моногидрата и микрокристаллической целлюлозы (в соотношении 1:2). В качестве дезинтегранта использовалась кроскармеллоза натрия (2% от массы таблетки). Связующее вещество (Kollidon® 25) в количестве 5% от массы таблетки обеспечило хорошую завязываемость гранул. Таблетки ГМЛ-3 обладали высоким уровнем высвобождения (89,96% за 45 минут), что свидетельствует о правильности выбора состава и технологии таблеток ГМЛ-3.

Ключевые слова: влажное гранулирование, таблетки, ГМЛ-3, высвобождение, технологические характеристики

По данным ВОЗ, нарушения, связанные с наличием тревожных состояний, включающих по МКБ-10 генерализованные тревожные, фобические, панические и обсессивно-компульсивные расстройства, наблюдаются примерно у 10% населения в целом и у 20% пациентов звена первичной медицинской помощи. Отличительной чертой тревожных расстройств является нарушение способности регулировать эмоциональные реакции на предполагаемую угрозу. Это может произойти из-за снижения порога активации миндалины и связанных с ней лимбических структур или неспособности гиппокампа и префронтальной коры затормозить повышенную активность нейронов миндалины. В результате этого острая или хроническая активация стрессовой системы может влиять на функции других физиологических систем: иммунной, эндокринной и сердечно-сосудистой, увеличивая риск развития различных заболеваний, что делает крайне перспективной разработку новых

противотревожных препаратов. Анксиолитики известны медицине с середины XX века. К этому же времени относится начало поиска новых молекул, обладающих анксиолитическим (транквилизирующим) действием, и ведутся разработки лекарственных форм на их основе. Поиск новых транквилизаторов обусловлен необходимостью свести к минимуму побочные эффекты от их применения, предотвратить привыкание к некоторым из них, добиться быстрого наступления противотревожного эффекта.

На базе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в лаборатории пептидных биорегуляторов синтезирована новая активная фармацевтическая субстанция (АФС) – производное пирролопиразина N-бутил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин 3-карбоксамид (ГМЛ-3), обладающая анксиолитической активностью, сопоставимой с диазепамом, и антидепрессивной активностью, сравнимой с амитриптилином [1–3]. Также ГМЛ-3 лишен большинства побочных эффектов бензодиазепинов, в том числе диазепама. В статье показана разработка состава и технологии таблеток на основе ГМЛ-3 с использованием современных инструментов обоснования выбора вспомогательных веществ, позволяющих получить таблетки требуемого качества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – АФС N-бутил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин 3-карбоксамид (ГМЛ-3).

При разработке состава таблеток были использованы вспомогательные вещества (ВВ): микрокристаллическая целлюлоза 101 (МКЦ 101) [Microcel MCC 101, Blanver, Бразилия (USP/BR/JP/EP)], двухосновный фосфат кальция [Emcompress®, JRS Pharma, Германия (USP/NF, FCC)], лактозы моногидрат [Lactochem®, DFE Pharma (USP/NF, Ph.Eur., JP)], поливинилпирролидон [Kollidon® 25, BASF, Гер-

мания (USP/NF, EP, JP)], привитой сополимер полиэтиленгликоля и поливинилового спирта [Kollicoat® IR, BASF, Германия (USP-NF, Ph. Eur., JPE)], натрия кроскармеллоза [Solutab®, Blanver, Бразилия (USP, EP, BR, JP)].

В ходе исследования использовали следующее оборудование: вибрационное устройство Erweka – для определения сыпучести порошков; для установления прочности таблетки на раздавливание применяли TBF 1000 (Copley Scientific, Великобритания); насыпной плотности порошков – Erweka (Erweka, Германия), распадаемости таблеток – PTZ-S (Pharma Test, Германия). Также применяли ручной гидравлический пресс (ПРГ-1-50, ВНИР, Россия), анализатор влажности Sartorius MA-35 (Sartorius AG, Германия), тестер распадаемости (ERWEKA DT 720, Германия), ручной тестер растворения РТ-DT70 (Pharma Test, Германия), спектрофотометр УФ-1100 Эквью (Россия). Структуру ГМЛ-3 наблюдали с помощью сканирующей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 20кВ на аппарате ZEISSE VOMA 10 (Carl Zeiss AG, Германия) согласно ГФ XV (ОФС.1.2.1.0001). Технологические параметры АФС ГМЛ-3 и модельных смесей измеряли согласно методикам ГФ XV (ОФС.1.4.2.0024, ОФС.1.4.2.0016). Кинетика растворения изучалась согласно методике «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» (ГФ XV, ОФС.1.4.2.0014).

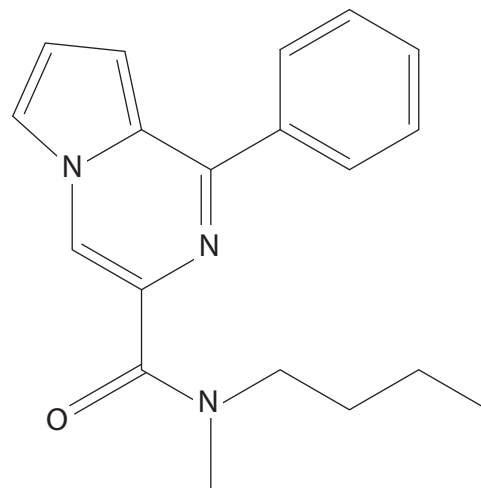


Рис. 1. Структурная формула ГМЛ-3

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакодинамические исследования активности АФС позволили рекомендовать терапевтическую дозировку 1 мг [1,2].

На первом этапе исследования с целью выбора технологии и разработки состава таблеток ГМЛ-3 исследованы физико-химические и технологические свойства АФС ГМЛ-3 (табл. 1). По данным сканирующей электронной микроскопии, частицы ГМЛ-3 представляют собой конгломераты неправильной формы, склонные к агрегации (рис. 2).

Анализ технологических характеристик АФС ГМЛ-3 позволяет сделать вывод о том, что АФС обладает неудовлетворительными показателями, для корректировки которых требуется введение вспомогательных веществ (табл. 1). Также по причине низкой дозировки АФС требуется использование достаточно

большого количества наполнителей, чтобы набрать необходимую массу таблеток, и дезинтегрантов для обеспечения распадаемости. Выбор оптимальных наполнителей и их пропорций в технологии влажного гранулирования зависит от их влагопоглощающей способности и основных технологических характеристик.

С целью выбора наиболее оптимального состава на втором этапе изучали влагопоглощающую способность МКЦ 101, лактозы моногидрата, кальция гидрофосфата и их смесей. Для этого отбирали одинаковые навески наполнителей и увлажняли водой очищенной, практические соотношения которых представлены в табл. 2.

Полученные увлажненные смеси гранулировали через сито с диаметром ячеек $1,00 \pm 0,05$ мм, высушивали при температуре $55 \pm 0,5^\circ\text{C}$, после чего проводили ситовую ка-

Таблица 1

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АФС ГМЛ-3

Показатель	Значение	
Форма частиц	Геометрически неправильная, с присутствием крупных агломератов	
Описание внешнего вида	Желто-зеленый кристаллический порошок без запаха	
Растворимость	Вода	Практически нерастворим
	Этиловый спирт	Хорошо растворим
	Хлороформ	Очень хорошо растворим
	ДМСО	Очень хорошо растворим
	Гексан	Практически нерастворим
Сыпучесть, г/с	$0,08 \pm 0,02$	
Угол естественного откоса, °	$55,00 \pm 0,58$	
Насыпная плотность, г/см ³	– до уплотнения	$0,309 \pm 0,004$
	– после уплотнения	$0,524 \pm 0,007$
Коэффициент Карра (IC)	41,00	
Коэффициент Хауснера (IH)	1,69	
Потеря в массе при высушивании, %	$0,70 \pm 0,05$	

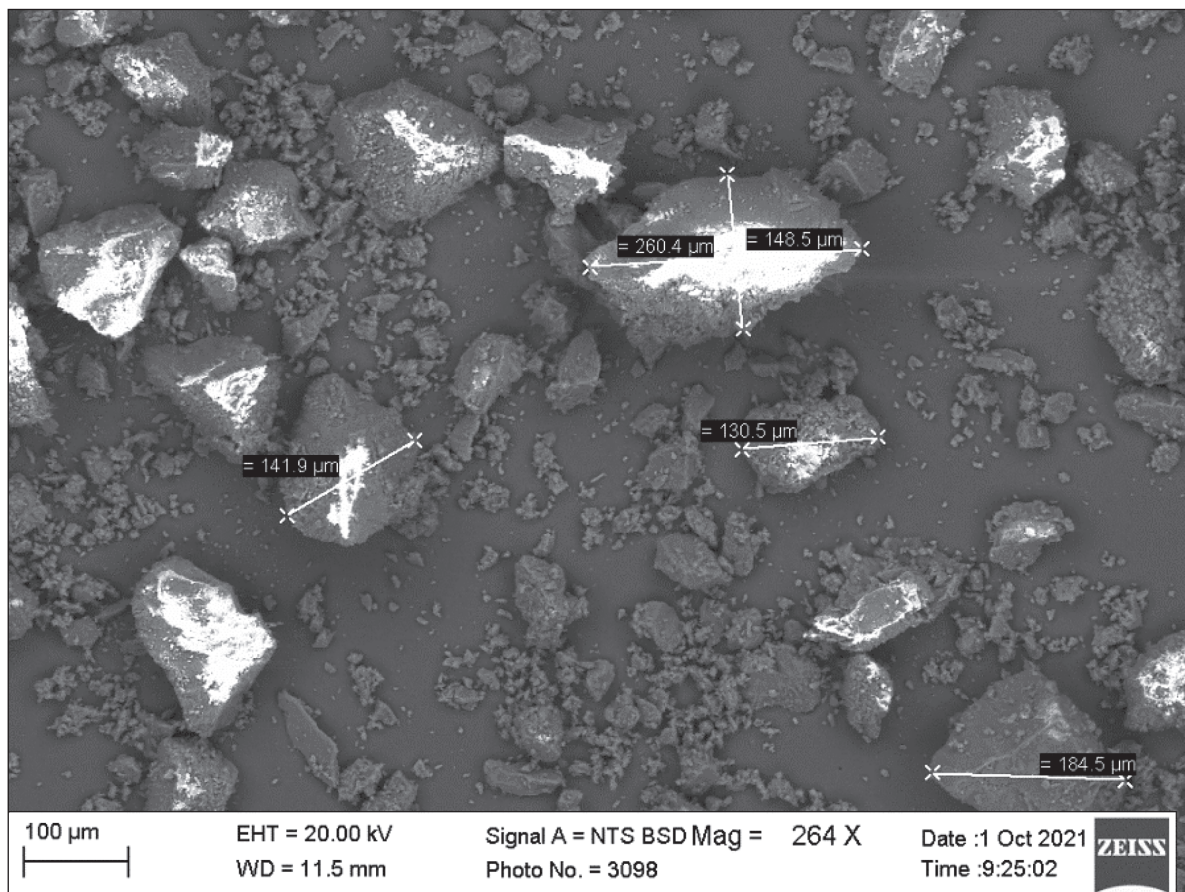


РИС. 2. Данные электронной сканирующей микроскопии АФС ГМЛ-3

либровку и прессовали при одинаковых условиях (диаметр пуансона 6 мм, давление прессования 6 кН). Изученные технологические параметры полученных таблеточных масс и таблеток отражены в табл. 3.

Экспериментальные результаты по влагопоглощающей способности наполнителей очень близки между собой, однако имеют некоторые различия, критичные для технологии

влажного гранулирования. Так, составы на основе кальция гидрофосфата продемонстрировали хорошую степень сыпучести таблеточных смесей и высокую прочность таблеток. Однако самой быстрой распадаемостью и в то же время повышенной хрупкостью характеризовались таблетки на основе лактозы моногидрата. При этом на увлажнение МКЦ 101 требовалось большее количество воды очищенной по сравнению с другими наполнителями, однако ее высокая прочность, хорошая сыпучесть и структурные особенности волокон делают это вспомогательное вещество одним из наиболее предпочтительных наполнителей. В итоге нами сделан вывод, что модельные составы таблеток ГМЛ-3, состоящие из смесей МКЦ с лактозой моногидрата или кальция гидрофосфата, являются наиболее подходящими для разработки. В первом случае исследовали лекарственную форму (ЛФ) на основе

Таблица 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГОПОГЛОЩАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ НАПОЛНИТЕЛЕЙ

№	Наполнитель, 1 г	Вода очищенная, г
1	МКЦ 101	4,12±0,12
2	Лактозы моногидрат	1,41±0,05
3	Кальция гидрофосфат	2,11±0,08

Таблица 3

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРАНУЛИРОВАННЫХ НАПОЛНИТЕЛЕЙ И МОДЕЛЬНЫХ ТАБЛЕТОК НА ИХ ОСНОВЕ

№	Гранулированный наполнитель				Модельные таблетки	
	Степень сыпучести				Прочность, Н	Распадаемость, с
	Сыпучесть, г/с	Угол откоса, °	ИН	ИС, %		
1	4,78±0,09	47±0,2	1,13	16,5	8,87±1,50	8,12±0,71
2	4,16±0,06	44±0,1	1,20	21,1	5,53±0,60	5,48±0,54
3	5,02±0,15	40±0,1	1,18	15,8	12,10±1,70	8,91±0,90

комбинации МКЦ 101 с лактозой моногидратом в соотношении 1:2, что позволит уравновесить время распадаемости. Во втором случае получали таблетки на основе смеси МКЦ 101 и кальция гидрофосфата в соотношении 1:1, которые потенциально улучшат показатели сыпучести и прочности. Особенности технологических характеристик АФС ГМЛ-3, а именно низкая степень сыпучести ФС и нерастворимость в воде, делают водно-спиртовую смесь более предпочтительным веществом, выступающим в качестве увлажняющей жидкости.

Для достижения хорошей сыпучести и прессыруемости таблеточной массы путем обеспечения сцепления частиц ВВ и АФС ГМЛ-3, а также получения надлежащего качества гранул осуществлялся подбор оптимального связующего ВВ (табл. 4). Согласно литературным данным, меньшей хрупкостью обладают гранулы

ВВ, содержащие 5% связующего (ПВП) [4,5]. Одним из наиболее используемых в фармацевтической технологии связующим веществом является ПВП – в частности, известный под торговым наименованием Kollidon® 25. Он обладает оптимальной вязкостью в растворе и обеспечивает связываемость частиц в гранулы [6,7]. В качестве альтернативы ПВП в технологии влажного гранулирования используют различные сополимеры, как, например, сополимер поливинилового спирта и ПЭГ, известный под коммерческим названием Kollicoat® IR. Вязкость и связывающая способность Kollicoat® IR (K-IR) и Kollidon® 25 (K-25) в 10% растворе сопоставима, что не позволяет теоретически обосновать выбор между ними, в связи с чем проведено сравнительное изучение связующих в таблеточных смесях, составы которых приведены в табл. 4.

Таблица 4

МОДЕЛЬНЫЕ СОСТАВЫ ТАБЛЕТОК ГМЛ-3

Состав	ГМЛ-3, мг	МКЦ 101, мг	Лактозы моногидрат, мг	Кальция гидрофосфат, мг	Kollidon® 25, мг	Kollicoat® IR, мг	Магния стеарат, мг
1	1	30	63	–	–	5	1
2	1	30	63	–	5	–	1
3	1	46,5	–	46,5	–	5	1
4	1	46,5	–	46,5	5	–	1

МОДЕЛЬНЫЕ СОСТАВЫ ТАБЛЕТОК ГМЛ-3

Состав	ГМЛ-3, мг	МКЦ 101, мг	Лактозы моногидрат, мг	Кальция гидрофосфат, мг	Kollidon® 25, мг	Натрия кроскармеллоза, мг	Магния стеарат, мг
5	1	30	61	–	5	2	1
6	1	45,5	–	45,5	5	2	1

Относительно длительное время растворения К-IR в гранулирующей жидкости и неоднородность фракционного состава полученных гранул делает К-25 более предпочтительным ВВ в качестве связующего, в связи с чем дальнейшие исследования по оптимизации состава таблеток ГМЛ-3 проводили с использованием модельных смесей 2 и 4.

По причине низкой дозировки АФС для обеспечения приемлемого времени распадаемости таблеток ГМЛ-3 в состав был добавлен супердезинтегрант, одним из наиболее подходящих из которых является кроскармеллоза натрия. Данный дезинтегрант хорошо проводит воду (капиллярный эффект), что позволяет

добавлять его в таблеточную массу непосредственно перед увлажнением. Таким образом, в модельных смесях 2 и 4 далее присутствовал дезинтегрант в количестве 2%, составы 5 и 6 соответственно (табл. 5).

Согласно данным по распадаемости (ОФС.1.4.2.001), добавление 2% дезинтегранта позволило уменьшить время распадаемости таблеток до 2–3 мин. Для сравнения эффективности составов 5 и 6 проводилась оценка количества высвобождаемой из таблеток АФС ГМЛ-3, составы исследовали путем проведения испытания на растворение.

Согласно требованиям ГФ XV («Растворение для твердых дозированных лекарственных

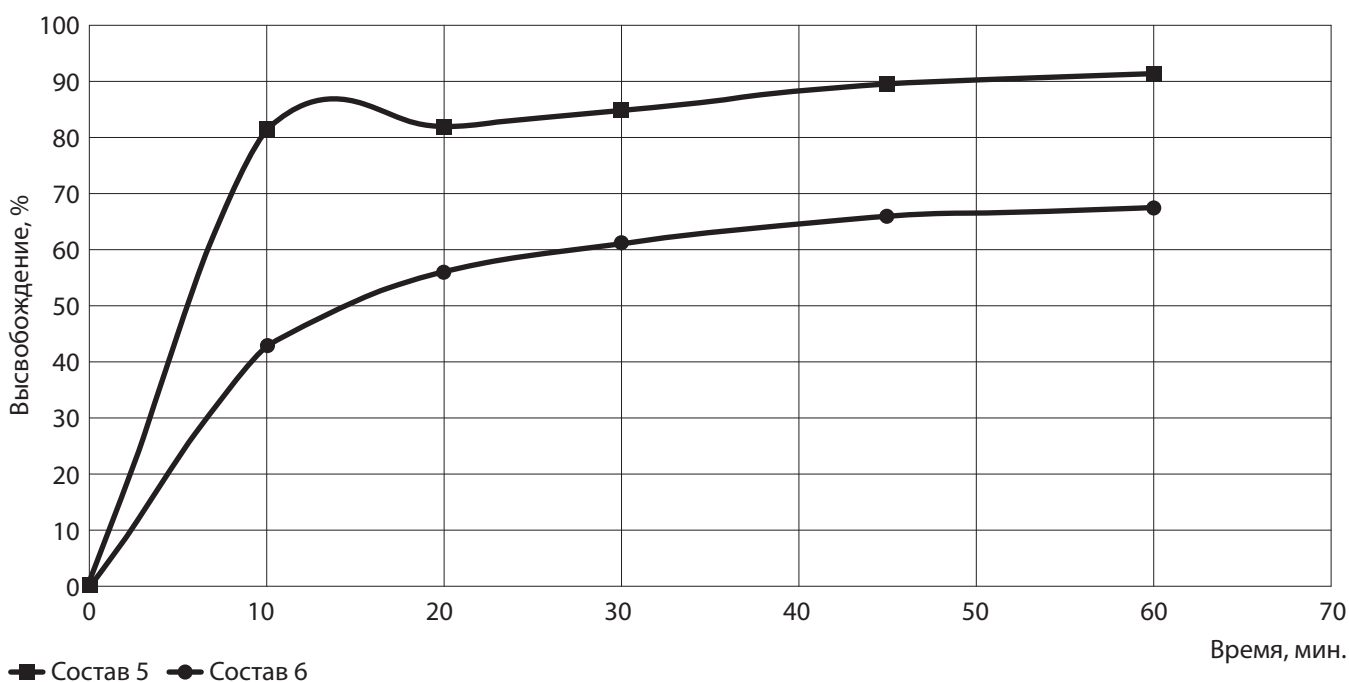


РИС. 3. Профиль высвобождения АФС ГМЛ-3 из таблеток в среде воды очищенной

форм», ОФС.1.4.2.0014), количество АФС, высвободившегося в среду растворения с температурой $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 45 мин. при скорости вращения лопастной мешалки 50 об/мин, должно составлять не менее 75% от заявленного содержания. Исследование проводилось при длине волны $\lambda=254$ нм, результаты по высвобождению АФС ГМЛ-3 в воду очищенную представлены на рис. 3.

Таким образом, выбор ВВ и увлажнителя в совокупности с применением технологии влажного гранулирования позволил обеспечить высокую степень высвобождения ГМЛ-3, характеризующегося плохой растворимостью в воде, из таблеток в среду растворения без введения солилизаторов.

Основываясь на полученных данных, можно заключить, что высвобождение АФС ГМЛ-3 из состава 6, содержащего кальция гидрофосфат и МКЦ, составляет лишь 65,89%, что делает его не соответствующим требованию ГФ XV.

Напротив, состав 5 обладает достаточно высоким уровнем высвобождения АФС ГМЛ-3 (89,96%) и является оптимальным для создания таблеток ГМЛ-3. Гранулят для состава 5

Таблица 6

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОСТАВА 5, ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТАБЛЕТОК ГМЛ-3

Параметры		Значения
Сыпучесть, г/с		7,13±0,09
Угол естественного откоса, град.		32,00±0,79
Насыпная плотность, г/см ³	– без уплотнения	0,295±0,007
	– с уплотнением	0,350±0,009
Коэффициент Карра (IC)		18,6
Коэффициент Хауснера (IH)		1,19
Потеря в массе при высушивании, %		2,11

имеет улучшенные технологические свойства по сравнению с ФС ГМЛ-3 и удовлетворяет требованиям ГФ XV (табл. 6).

Угол естественного откоса соответствует хорошей сыпучести, коэффициент Карра удовлетворительный (при значении 15–20), Хауснера – соответствует приемлемой сыпучести и прессуемости (1,19–1,25).

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что полученные таблетки ГМЛ-3 обладают высоким уровнем высвобождения в тесте «Растворение» и фармацевтико-технологическими свойствами, удовлетворяющими требованиям ГФ XV.

ВЫВОДЫ

Проведены исследования по разработке состава таблеток ГМЛ-3 в дозировке 1 мг, полученных методом влажного гранулирования. Технологические характеристики разработанной твердой лекарственной формы, соответствующие требованиям ГФ XV, наряду с полученными данными о высокой степени высвобождения АФС ГМЛ-3 из таблеток (89,96% за 45 минут) свидетельствуют о рациональности выбора вспомогательных веществ при разработке таблеток ГМЛ-3.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Mokrov G.V., Deeva O.A., Gudasheva T.A., Yarkov S.A., Yarkova M.A., Seredenin S.B. // *Bioorg. Med. Chem.* 2015, 23, 3368–3378. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.049>.
2. Yarkov S.A., Mokrov G.V., Gudasheva T.A., Yarkova M.A., Seredenin S.B. // *Eksp. Klin. Farmakol.* 2016, 79, 7–11.
3. Yarkova M.A., Mokrov G.V., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. // *Pharm. Chem. J.* 2016, 50, 3–6. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2016-50-8-3-6>.

4. Жилиякова Е.Т., Агарина А.В., Новикова М.Ю., Иванова Л.Л. // Научный результат. Медицина и фармация. 2016, 2(4), 95–100. DOI: 10.18413/2313-8955-2016-2-4-95-100.
5. Sun W., Sun C. A microcrystalline cellulose based drug-composite formulation strategy for developing low dose drug tablets // International Journal of Pharmaceutics, 2020, 585, 119517.
6. Rose A.A., Kaialy W. Improved tableting behavior of paracetamol in the presence of polyvinylpyrrolidone additive: effect of mixing conditions // Particuology, 2019, 43, 9–18.
7. Агнезе Т., Цех Т., Рютцлер А., Муффлер К. Сравнительный анализ Kollicoat® IR и ПВП в процессе влажной грануляции в псевдооживленном слое // Фармацевтическая отрасль, 2021, 1(84).

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF GML-3 TABLETS OBTAINED BY WET GRANULATION METHOD

V.B. Markeev, S.V. Tishkov, E.V. Blynskaya, K.V. Alekseev, L.M. Gaevaya

Research Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusova, Moscow, Russia

Developed on the basis of the Federal State Budgetary Institution "Research Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusova" GML-3 is devoid of most of the side effects of benzodiazepines, including diazepam. The development of GML-3 tablets is a promising task, but its unsatisfactory pharmaceutical and technological properties are a problem. The article developed the composition and technology of GML-3 tablets. Model formulations were evaluated using the Dissolution test. Wet granulation was chosen as the technology, since the resulting tablet masses had good flowability and ensured uniform dosing of the GML-3 API. The optimal filler was a mixture of lactose monohydrate and microcrystalline cellulose (1:2 ratio). Croscarmellose sodium (2% by weight of the tablet) was used as a disintegrant. The binder (Kollidon® 25) in an amount of 5% by weight of the tablet ensured good binding of the granules. GML-3 tablets had a high release level (89.96% in 45 minutes), which indicates the correct choice of the composition and technology of GML-3 tablets.

Keywords: wet granulation, tablets, GML-3, release, technological characteristics

УДК 615.014:615.453.8:578.81

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.16.11.006>

ВЛИЯНИЕ ДАВЛЕНИЯ ПРЕССОВАНИЯ НА КАЧЕСТВО ТАБЛЕТОК С БАКТЕРИОФАГОМ

Н.А. Ковязина, канд. фарм. наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, natanat.pgfa@gmail.com

Статья посвящена изучению влияния технологического фактора давления прессования на показатели качества таблеток «Интести-бактериофаг». Проведена сравнительная оценка влияния давления прессования на плотность, прочность к раздавливанию, истираемость и распадаемость. На основании экспериментальных данных определены параметры давления прессования таблеток «Интести-бактериофаг», которые обеспечивают биологическую доступность комбинированного бактериофага, доброкачественность таблеток и рациональные технико-экономические показатели производства. Оптимальный уровень давления прессования составляет от 60 до 90 МПа.

Ключевые слова: бактериофаг, гранулят, давление прессования, истираемость, прочность, распадаемость, таблетки

Создание высокоэффективных твердых лекарственных форм, содержащих лечебно-профилактические бактериофаги, приобретает все большую актуальность [1–4]. Фармацевтическая разработка таблеток с бактериофагом включает изучение производственных параметров, способных повлиять на качество и стабильность активной фармацевтической субстанции при получении, хранении и применении лекарственного фагопрепарата.

Одним из фармацевтических факторов производства, влияющих на качество, биологическую доступность и терапевтическую эффективность бактериофагов в таблетированной лекарственной форме, является давление прессования [5]. Оптимальное удельное давление прессования обеспечивает необходимые потребительские и фармацевтико-технологические свойства таблетированных фагопрепаратов (описание, прочность таблеток на раздавливание, истираемость, распадаемость, растворение), а также нормализует технико-экономические показатели, необходимые для производства таблеток (повышение производительности труда при меньших затратах сырья и энергии, увеличение технологического выхода готовой продукции, уменьшение износа пресс-инструмента и пр.). Поэтому в промышленности необходимы четкие критерии оптимизации режимов прессования, обеспечивающих оптимальные качественные характеристики таблеток.

Цель работы – изучение влияния технологического фактора давления прессования на качество таблеток с бактериофагом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован гранулят с комбинированным поливалентным «Интести-бактериофагом». Для получения гранулята использовалась

биологическая активная фармацевтическая субстанция стерильного фильтрата фаголизатов бактерий *Shigella flexneri* 1, 2, 3, 4, 6 сероваров, *Shigella sonnei*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella oranienburg*, *Salmonella enteritidis*, энтеропатогенной *Escherichia coli* различных серогрупп, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Биологически активную фармацевтическую субстанцию сублимационно высушивали с добавлением вспомогательных веществ, гранулировали и опудривали. Модельные таблетки плоскоцилиндрической формы диаметром 7 мм и массой 170 мг получали методом прессования гранулята сухой биомассы бактериофага на лабораторном ручном гидравлическом таблеточном прессе при давлениях в диапазоне 30...210 МПа. Специфическая (литическая) активность модельных таблеток «Интести-бактериофаг» по методу Аппельмана составляла $10^{-3,75 \pm 0,53}$. Одна таблетка массой 170 мг эквивалентна 20 мл жидкого коммерческого препарата «Интести-бактериофаг».

Определение *геометрических размеров* таблеток проводили штангенциркулем с ценой деления 0,05 мм [6].

Плотность таблетки (ρ) рассчитывали по формуле:

$$\rho = \frac{4m}{\pi d^2 h},$$

где ρ – объемная плотность таблетки; m – масса таблетки; d – диаметр таблетки; h – высота таблетки.

Коэффициент уплотнения (k) рассчитывали по формуле:

$$k = \frac{\rho}{m},$$

где k – коэффициент уплотнения; ρ – объемная плотность модельных таблеток; m – насыпной вес исходного гранулята.

Предел прочности (G) модельных таблеток плоскоцилиндрической формы оценивали по их прочности при разрушении сжатием в диаметральной направлении (на ребро). Предел прочности рассчитывали по формуле:

$$G = \frac{P}{dh},$$

где G – предел прочности, МН/м²; P – разрушающее усилие, Н; d – диаметр таблетки, м; h – высота таблетки, м.

Предел прочности должен укладываться в интервал 0,6...1,0 МН/м². Значение предела прочности порядка 0,8 МН/м² оценивается как приемлемое для таблеток в качестве лекарственных форм. При этом условия таблетки сохраняют стабильный вес при хранении, фасовке, транспортировке и обладают надлежащей распадаемостью [6].

Качество кишечнорастворимых таблеток «Интести-бактериофаг» по показателю «описание» проводили согласно требованиям ОФС.1.4.1.0015.15, «распадаемость» – согласно ОФС.1.4.2.0013.15, «истираемость таблеток» – согласно ОФС.1.4.2.0004.15 на 12-лопастном фриабиляторе, «прочность таблеток на раздавливание» – согласно ОФС.1.4.2.0011.15 [7].

Статистически обрабатывали результаты с использованием компьютерной программы XLSTAT в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Технологический процесс производства таблетированных фагопрепаратов включает технологическую стадию прессования, параметры которой определяют качество

таблеток с бактериофагом. Технико-экономические показатели оптимизации режима прессования основаны на изучении упруго-пластических свойств таблетлируемой массы, которые влияют на фармацевтико-технологические характеристики таблеток (описание, пористость, расслоение, истираемость, прочность на раздавливание, распадаемость, растворение). Пластические свойства гранулята определяли путем анализа влияния давления прессования на плотность таблетки. Зависимость плотности модельных таблеток с комбинированным «Интести-бактериофагом» от давления прессования представлена рис. 1.

В эксперименте установлено, что с увеличением давления прессования повышается плотность таблетированной фармацевтической композиции. Полиномиальная функция давления прессования в интервале от 30 до 60 МПа имеет крутой угол подъема, происходит интенсивное нарастание плотности таблеток при относительно свободном перемещении частиц, занимающих пустоты. На данной стадии частицы гранулята сближаются и уплотняются без деформации – вследствие смещения частиц относительно

друг друга и заполнения пустот. В диапазоне от 60 до 105 МПа происходит интенсивное уплотнение материала за счет заполнения пустот и возникновения упругой, пластической и хрупкой деформации частиц порошка, что способствует образованию плотной компактной таблетки, обладающей достаточной механической прочностью. Полиномиальная функция давления прессования в интервале от 105 до 210 МПа выходит на плато. Возрастание давления прессования практически не влияет на плотность, происходит объемное сжатие с образованием компактного тела. При последующем увеличении давления прессования напряжения частиц достигают предела прочности, то есть деформации частиц и образования новых контактных поверхностей не происходит.

Таким образом, исследуемый гранулят обладает пластическими свойствами. Оптимальный диапазон давления прессования таблеток «Интести-бактериофаг» – от 60 до 105 МПа.

Механическая прочность таблеток обеспечивает потребительские свойства препарата (сохранение целостности таблетки при фасовке, транспортировке, хранении, а также извлечении из упаковки). Результаты исследования

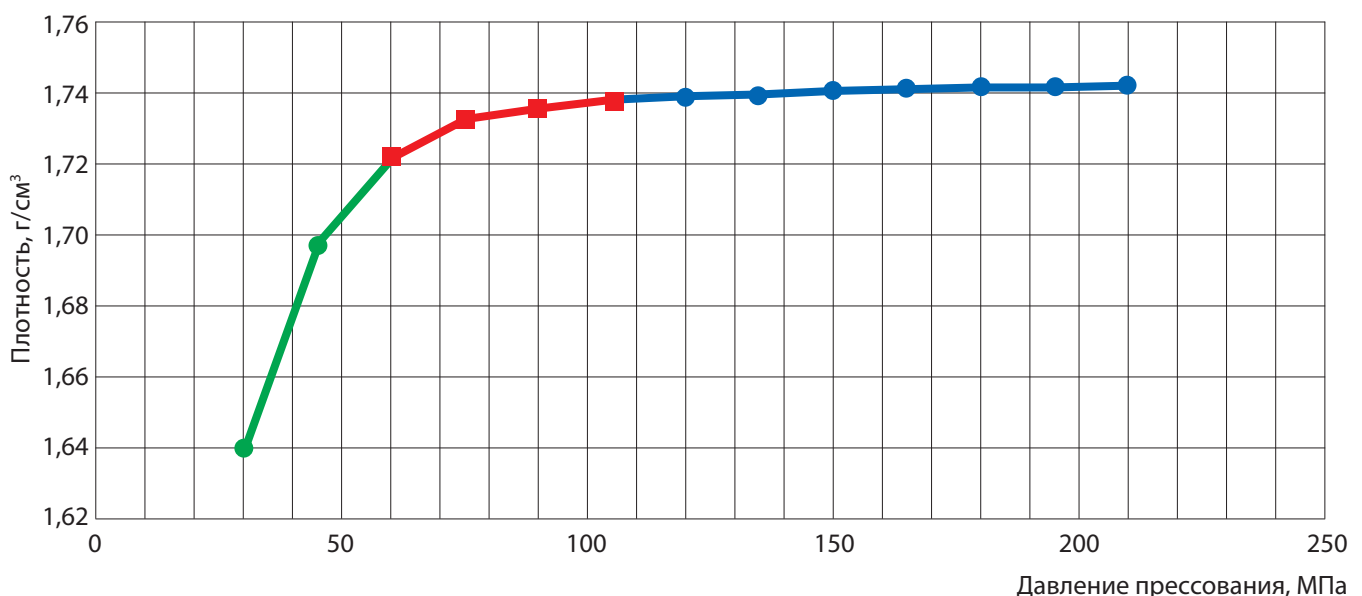


РИС. 1. Влияние давления прессования на плотность таблеток «Интести-бактериофаг»

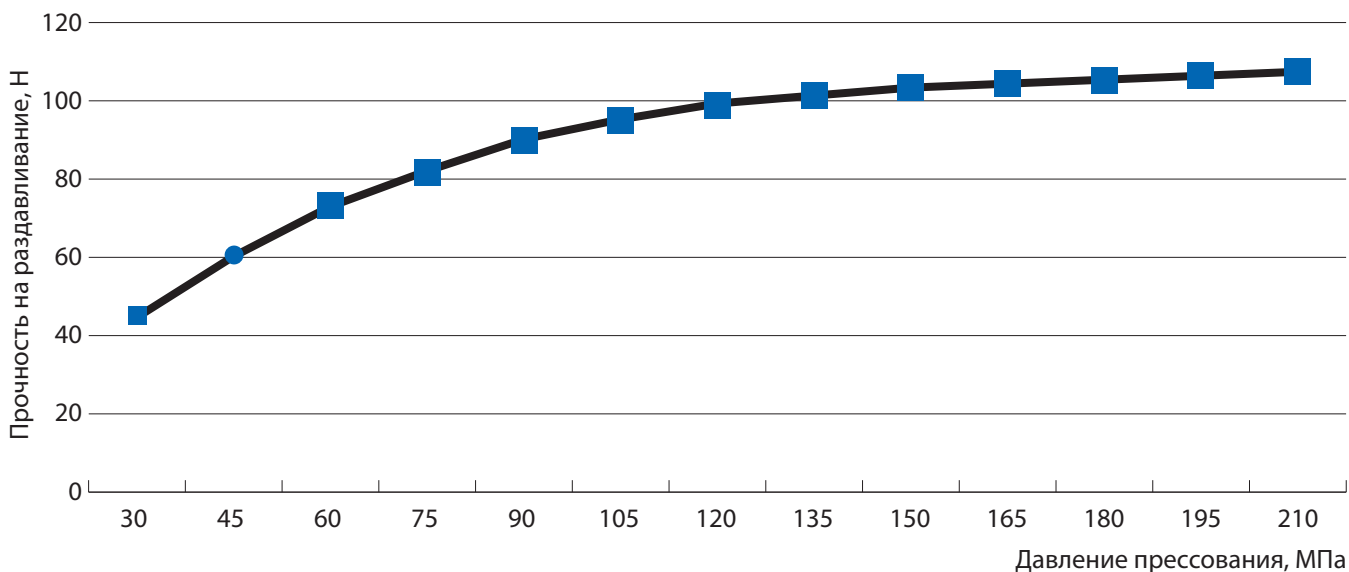


РИС. 2. Влияние давления прессования на прочность таблеток «Интести-бактериофаг» к раздавливанию

прочности таблеток «Интести-бактериофаг» при вертикальной ориентации в зависимости от давления прессования представлены на рис. 2.

Качество экспериментальных образцов таблеток «Интести-бактериофаг» при давлении прессования в диапазоне от 30 до 210 МПа соответствовало фармакопейным требованиям устойчивости таблеток к раздавливанию [7]. В процессе таблетирования гранулята

с бактериофагом при увеличении давления прессования прочность таблеток на раздавливание возрастает. При получении таблеток «Интести-бактериофаг» под действием давления от 30 до 45 МПа прочность варьировала от 45 до 60 Н, однако таблетки имели на поверхности мраморный рисунок, что не соответствует годности по показателю «описание». Оптимальный уровень лежит в диапазоне от 60 до 210 МПа.

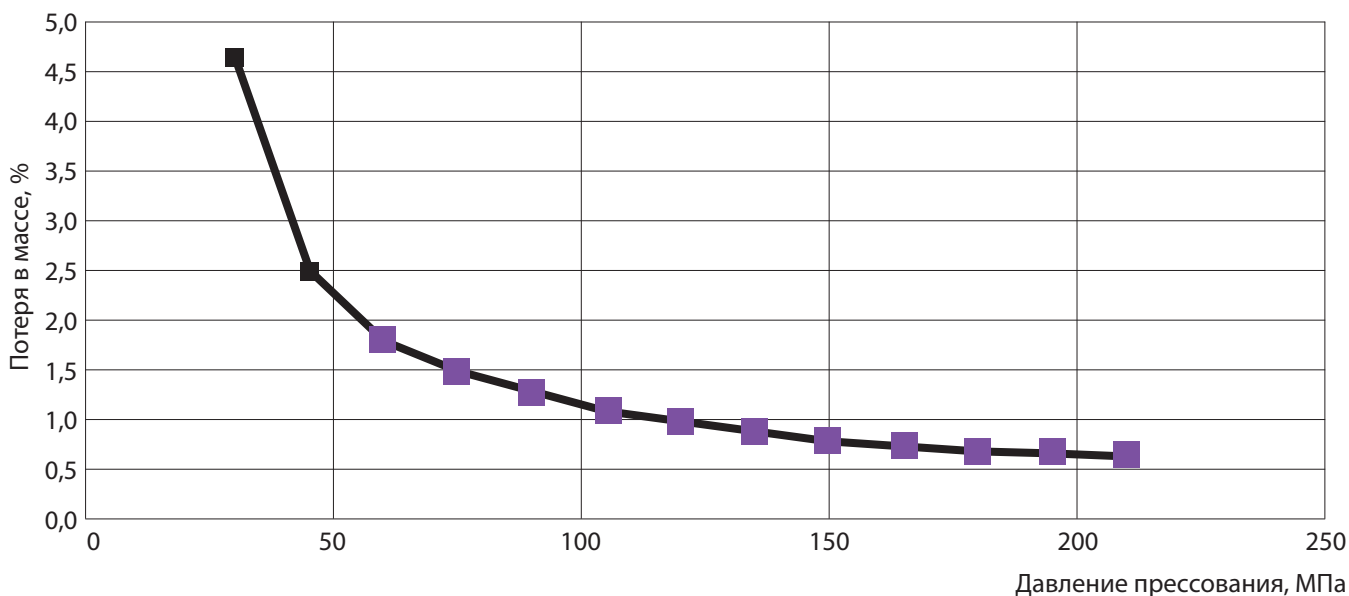


РИС. 3. Влияние давления прессования на истираемость таблеток «Интести-бактериофаг»

Таблица

РАСПАДАЕМОСТЬ ТАБЛЕТОК «ИНТЕСТИ-БАКТЕРИОФАГ»

Давление прессования, МПа	Распадаемость, мин.	
	хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М	фосфатный буферный раствор с pH 6,8
30	28÷36	-
60	> 60	35÷42
90	> 60	46÷51
120	> 60	> 60
150	> 60	> 60

Механическая прочность по испытанию на истираемость определяет качественные характеристики таблеток по фармацевтико-технологическим показателям: описание, однородность массы, распадаемость. Влияние давления прессования на истираемость таблеток «Интести-бактериофаг» представлено на рис. 3.

Анализ данных зависимости потери в массе таблеток при истирании от давления прессования показал, что при повышении давления прессования истираемость таблеток «Интести-бактериофаг» уменьшается, что говорит о прочности связей между частицами порошка в таблетке. Таблетки, полученные под действием давления прессования до 33 МПа, имели потерю в массе более 3%, что говорит о несоответствии доброкачественности фармакопейным требованиям. Установлено, что оптимальное давление прессования, обеспечивающее качество таблеток «Интести-бактериофаг» по показателю «истираемость», составляет более 60 МПа.

Распадаемость является фармацевтико-технологическим испытанием таблеток, позволяющим оценить твердую лекарственную форму по технологическим и биофармацевтическим критериям. Бактериофаги лабильны к гастроэнтеральным средам организма и подвергаются частичной инаktivации кислой средой желудка, что приводит к снижению биологической доступности бактериофагов [8]. Исследования влияния давления прессования на желудочную резистентность таблеток «Интести-бактериофаг» представлено в таблице.

При повышении давления прессования увеличивается время распадаемости таблеток. У экспериментальных образцов, полученных под действием давления прессования до 30 МПа, желудочную резистентность таблетированной формы не наблюдали. Таблетки, спрессованные под действием давления 120 МПа и более, не обладали дезинтеграцией

в биологических жидкостях, что говорит о низкой биологической доступности бактериофага из таблетированной лекарственной формы. Таблетки, полученные под действием давления прессования от 60 до 90 МПа, выдерживают воздействие 0,1 М раствора хлороводородной кислоты в течение 1 часа и распадаются в буферном растворе в течение 35–51 мин., обеспечивая релиз бактериофагов из твердой лекарственной формы, что соответствует фармакопейным требованиям.

Таким образом, давление прессования в диапазоне от 60 до 90 МПа обеспечивает устойчивость таблеток «Интести-бактериофаг» в кислой среде и дезинтеграцию в фосфатном буферном растворе.

ВЫВОДЫ

На основании экспериментальных данных определены параметры давления прессования таблеток «Интести-бактериофаг», которые обеспечивают биологическую доступность комбинированного бактериофага, доброкачественность таблеток и рациональные технико-экономические показатели производства.

Гранулят с комбинированным бактериофагом для таблетирования обладает пластическими свойствами. Оптимальный уровень давления прессования таблеток «Интести-бактериофаг» составляет от 60 до 90 МПа, что обеспечивает получение твердой лекарственной формы с желудочной резистентностью и приемлемым диапазоном прочности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Саперкин Н.В., Ковалишена О.В., Квашнина Д.В., Раузендал Э., Схолтен Р. Эффективность использования бактериофагов для лечения и профилактики инфекции: систематический обзор // Журнал инфектологии. 2019; 11(4): 19–30. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-4-19-30>
2. Зурабов Ф., Жиленков Е. Характеристика четырех вирулентных бактериофагов *Klebsiella pneumoniae* и оценка их потенциального использования в комплексных препаратах фагов // Вирол. Ж. 18, 9 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01485-w>
3. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Методические рекомендации. – Москва, 2022. – 32 с.
4. Грибкова Е.И., Цай А.Т., Головлева А.И. Изучение ассортимента фармацевтического рынка бактериофагов // Материалы МСНК «Студенческий научный форум 2023». 2020. №5. С. 98-100; URL: <https://publish2020.scienceforum.ru/ru/article/view?id=313> (дата обращения: 12.01.2023).
5. Сеткина С.Б., Хишова, О.М. Биофармацевтические аспекты технологии лекарственных средств и пути модификации биодоступности // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2014; Т. 13, №4. С. 162–172.
6. Вальтер М.Б., Тютенков О.Л., Филиппин Н.А. Постадийный контроль в производстве таблеток. – М.: Медицина, 1982. – 208 с.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2. – Москва, 2018. – 3262 с.
8. Ковязина Н.А., Функнер Е.В., Николаева А.М. и др. Технологические аспекты разработки капсул с бактериофагами // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация, 2015; 1. С. 132–136.

THE EFFECT OF PRESSING PRESSURE ON THE QUALITY OF BACTERIOPHAGE TABLETS

N.A. Kovyazina

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

The article is devoted to the research of the influence of technological factor of pressing pressure on quality indexes of Intesti-Bacteriophage tablets. A comparative evaluation of the influence of pressing pressure on density, crush resistance, abrasibility and degradability has been carried out. On the basis of experimental data the parameters of pressing pressure of Intesti-Bacteriophage tablets which provide bioavailability of combined bacteriophage, good quality tablets and rational technical and economic indices of production are determined. Optimal level of pressing pressure is from 60 to 90 MPa.

Keywords: Bacteriophage, granulate, pressing pressure, abrasion, strength, disintegration, tablets

УДК 615.15:613.221

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.79.11.007>

ФОРМИРОВАНИЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПОДГОТОВКИ КАДРОВ ВЫСШЕЙ КВАЛИФИКАЦИИ В ОРДИНАТУРЕ ПГФА

Т.Л. Малеева, канд. фарм. наук, доцент кафедры организации, экономики и истории фармации ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, tl.maleeva@gmail.com

С.В. Шильникова, канд. фарм. наук, доцент кафедры организации, экономики и истории ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, svshil@mail.ru

В статье представлен опыт формирования образовательных программ для подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальностям: «Фармацевтическая технология», «Управление и экономика фармации», «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» в виде четырех этапов с учетом требований образовательных стандартов, профессиональных стандартов, а также порядка допуска к осуществлению фармацевтической деятельности. Авторами показаны результаты сопоставления универсальных и профессиональных компетенций с трудовыми функциями, которые легли в основу разработки образовательных программ и ее структурных элементов. Реализация данных программ позволила подготовить высококвалифицированные фармацевтические кадры, которые успешно прошли все этапы первичной специализированной аккредитации и получили допуск к осуществлению ими профессиональной деятельности на новых должностях.

Ключевые слова: ординатура, профессиональный стандарт, федеральный государственный образовательный стандарт, универсальные компетенции, профессиональные компетенции

С 2019 года ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПГФА) ведет подготовку кадров высшей квалификации по программам ординатуры по специальностям: 33.08.01 «Фармацевтическая технология», 33.08.02 «Управление и экономика фармации» и 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия».

Согласно требованиям пункта 9 ст. 82 федерального закона от 29.12.2012 №273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации», подготовка по образовательным программам ординатуры должна обеспечивать приобретение обучающимися необходимого для осуществления профессиональной деятельности уровня знаний, умений и навыков, а также квалификации, позволяющей занимать определенные должности фармацевтических работников [1].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе описания опыта формирования образовательных программ для подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре ПГФА использовались следующие методы: изучение литературных источников и анализ

нормативных правовых актов, регулирующих подготовку фармацевтических кадров; теоретические методы группировки, обобщения, сравнения и структуризации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка образовательных программ ординатуры ПГФА включила в себя четыре этапа:

- отбор профессиональных стандартов (ПС) и определение перечня трудовых функций для каждой специальности с учетом порядка допуска к осуществлению фармацевтической деятельности;
- определение перечня компетенций и их сопоставление с трудовыми функциями;
- разработка паспортов универсальных и профессиональных компетенций;
- разработка рабочих программ дисциплин, производственных практик и программы государственной итоговой аттестации (ГИА) в рамках образовательной программы специальности ординатуры.

Одним из условий разработки образовательных программ по направлению подготовки 33.00.00 «Фармация», обеспечивающих готовность выпускников специалитета и ординатуры к выполнению профессиональной деятельности, является учет требований профессиональных стандартов [1,12]. Поэтому **на первом этапе** формирования образовательных программ нами был проведен отбор профессиональных стандартов, соответствующих профессиональной деятельности выпускников ординатуры для каждой специальности, и определены трудовые функции, имеющие отношение к профессиональной деятельности ординаторов.

Для подготовки ординаторов специальности 33.08.02 «Управление и экономика фармации» нами выбран профессиональный стандарт «Специалист в области управления

фармацевтической деятельностью», который включает в себя шесть трудовых функций: планирование деятельности фармацевтической организации (ФО); организация ресурсного обеспечения ФО; организация работы персонала ФО; управление качеством результатов текущей деятельности ФО; организация информационной и консультационной помощи для населения и медицинских работников; управление финансово-экономической деятельностью ФО [2].

Для обучения ординаторов специальности 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» сопряженным профессиональным стандартом стал «Провизор-аналитик», в котором обозначены три трудовые функции: мониторинг систем обеспечения качества лекарственных средств (ЛС) в аптечных организациях (АО); обеспечение наличия запасов реактивов в АО; проведение внутриаптечного контроля качества лекарственных препаратов (ЛП), изготовленных в АО, и фармацевтических субстанций [3]. Все трудовые функции вышеуказанных профессиональных стандартов были нами учтены при формировании образовательных программ ординатуры соответствующих специальностей.

В связи с отсутствием профессионального стандарта для специалистов, получивших квалификацию «провизор-технолог» после освоения программы ординатуры по специальности «Фармацевтическая технология» две обобщенные трудовые функции были заимствованы из профессионального стандарта «Специалист по промышленной фармации в области производства лекарственных средств»: разработка и сопровождение технологического процесса при промышленном производстве ЛС; управление промышленным производством ЛС [4].

В соответствии с требованиями нормативных правовых актов для получения допуска к осуществлению фармацевтической дея-

тельности выпускники ординатуры должны успешно пройти первичную специализированную аккредитацию по соответствующей специальности [5]. Методическим центром аккредитации, созданным Минздравом России на базе Первого МГМУ имени И.М. Сеченова, ведется методическое сопровождение процедуры аккредитации специалистов здравоохранения, в том числе разрабатываются и размещаются в открытом доступе (<https://fmza.ru/>) материалы для проведения первичной специализированной аккредитации, что, на наш взгляд, также должно быть учтено при формировании программ ординатуры. Изучение методических материалов для проведения первичной специализированной аккредитации по специальности «Фармацевтическая технология» позволило дополнить перечень трудовых функций специалиста с квалификацией «провизор-технолог»: организация функционирования системы обеспечения качества при изготовлении ЛП в ФО; планирование процесса изготовления ЛП в ФО. Таким образом, нами были определены четыре трудовые функции для подготовки выпускника ординатуры по специальности «Фармацевтическая технология».

Согласно требованию пункта 10 ст. 82 федерального закона от 29.12.2012 №273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации», обучение по программам ординатуры осуществляется в соответствии с федеральными государственными образовательными стандартами (ФГОС ВО). Образовательные стандарты обеспечивают единство образовательного пространства Российской Федерации и включают в себя требования к результатам освоения основных образовательных программ [1]. ФГОСами ВО группы специальностей 33.08.00 «Фармация» установлен перечень универсальных и профессиональных компетенций по каждой специальности, который должен быть сформирован у выпускника при освоении им программы ордина-

туры [6–8]. В связи с этим **на втором этапе** формирования образовательных программ ординатуры были соотнесены универсальные и профессиональные компетенции, приведенные во ФГОСах, с выбранными ранее трудовыми функциями (табл. 1).

Отметим, что во всех ФГОСах ВО по специальностям 33.08.00 «Фармация» включены три одинаковые универсальные компетенции и разное количество профессиональных компетенций, освоение которых позволит подготовить специалистов для осуществления ими самостоятельной профессиональной деятельности.

На третьем этапе подготовки образовательных программ были сформированы по разработанной нами форме паспорта всех универсальных и профессиональных компетенций по каждой специальности ординатуры ПГФА.

В паспорте компетенций отражены содержание компетенции (знания, умения, навыки), перечень наименований дисциплин и производственных практик, с помощью которых она будет формироваться, критерии оценивания и применяемые оценочные средства. Паспорта компетенций позволили отразить траекторию освоения каждой компетенции в виде этапов с учетом семестров и курсов, что, в свою очередь, дает возможность осуществлять фиксацию результатов формирования компетенции в течение всего процесса обучения.

На заключительном (четвертом) этапе на основе паспортов компетенций кафедрами ПГФА были разработаны рабочие программы дисциплин и производственных практик, программы государственной итоговой аттестации в рамках образовательной программы ординатуры по каждой специальности.

В табл. 2 представлен один из итогов работы четвертого этапа – структура образовательной программы ординатуры ПГФА по специальности 33.08.02 «Управление и экономика

СОПОСТАВЛЕНИЕ ТРУДОВЫХ ФУНКЦИЙ С УНИВЕРСАЛЬНЫМИ И ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМИ КОМПЕТЕНЦИЯМИ

Код и наименование специальности	Формируемые трудовые функции	Осваиваемые компетенции
33.08.01. Фармацевтическая технология	Разработка и сопровождение технологического процесса при промышленном производстве ЛП	УК-1, ПК-1, ПК-3, ПК-6
	Управление промышленным производством ЛС	УК-2, УК-3, ПК-1, ПК-3, ПК-6
	Организация функционирования системы обеспечения качества при изготовлении ЛП в ФО	ПК-2, ПК-3
	Планирование процесса изготовления ЛП в ФО	ПК-1, ПК-4, ПК-5, ПК-6
33.08.02. Управление и экономика фармации	Планирование деятельности ФО	УК-1, ПК-1, ПК-3
	Организация ресурсного обеспечения ФО	ПК-5, ПК-7
	Организация работы персонала ФО	УК-2, УК-3, ПК-4
	Управление качеством результатов текущей деятельности ФО	ПК-2, ПК-5, ПК-8, ПК-9
	Организация информационной и консультационной помощи для населения и медицинских работников	ПК-5
	Управление финансово-экономической деятельностью ФО	УК-1, ПК-6
33.08.03. Фармацевтическая химия и фармакогнозия	Мониторинг систем обеспечения качества лекарственных средств в аптечных организациях	УК-1, УК-2, УК-3, ПК-1, ПК-2, ПК-3, ПК-4, ПК-7, ПК-9, ПК-10
	Обеспечение наличия запасов реактивов в аптечной организации	ПК-6, ПК-9, ПК-10
	Проведение внутриаптечного контроля качества лекарственных препаратов, изготовленных в аптечных организациях, и фармацевтических субстанций	ПК-1, ПК-5, ПК-6, ПК-8, ПК-9, ПК-10, ПК-11

фармации», которая содержит 15 дисциплин (включая два факультатива), 5 программ производственных практик и программу ГИА.

При реализации компетентного подхода активно используется одна из рас-

пространенных форм интерактивного обучения, применяемая педагогами высших образовательных учреждений, – решение кейс-заданий [9,10]. При подготовке ординаторов ПГФА решение кейс-задания стало как тех-

Таблица 2

**СТРУКТУРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 33.08.02 «УПРАВЛЕНИЕ И ЭКОНОМИКА ФАРМАЦИИ»**

Структурные элементы образовательной программы		Объем в з.е.
Блок 1	Дисциплины	
Базовая часть	Управление и экономика фармации	22
	Фармакоэкономика	2
	Педагогика	2
	Психология	2
	Организация работы с непригодными для медицинского использования лекарственными средствами в медицинских и аптечных организациях	2
	Фармацевтическая технология	2
	Промышленная технология лекарств, биотехнология	2
	Обеспечение качества лекарственных средств на этапах создания, производства, изготовления и реализации	2
Вариативная часть	Обязательные дисциплины	
	Стратегическое управление фармацевтическими организациями	2
	Особенности обращения контролируемых групп лекарственных средств	2
	Дисциплины по выбору	
	Организация деятельности специализированной аптеки	2
	Организация лекарственной помощи в условиях чрезвычайных ситуаций	2
Организация фармацевтических работ и услуг при обращении товаров аптечного ассортимента	2	
Блок 2	Производственные (клинические) практики	
Базовая часть	Организация изготовления лекарственных препаратов в аптеке	3
	Организация и руководство фармацевтической деятельностью	63
Вариативная часть	Организация информационной и консультационной помощи населению при отпуске лекарственных препаратов и других товаров аптечного ассортимента	6
	Производственные (клинические) практики по выбору	
	Организация обеспечения населения медицинскими изделиями	3
	Реализация медико-фармацевтических технологий здоровьесбережения населения в рамках фармацевтической деятельности	3

Структурные элементы образовательной программы		Объем в з.е.
Блок 3 Базовая часть	Государственная итоговая аттестация	3
	Подготовка к сдаче и сдача государственного итогового экзамена	3
Общий объем программы в зачетных единицах – 120		
	Факультативы сверх нормы, з.е.	2
	Фармацевтическая деятельность: перспективы развития, актуальные проблемы и пути решения	2
	Производство лекарственных препаратов: перспективы развития, актуальные проблемы и пути решения	2

нологией обучения, так и способом проверки сформированности этапов компетенций в дисциплинах и практиках.

Решение профессиональной проблемной ситуации в контексте кейс-задания, с одной стороны, позволяет дать оценку овладения ординаторами запланированных рабочей программой дисциплины или производственной практики знаний, умений и навыков, в том числе необходимых для выполнения трудовых функций, предусмотренных профессиональным стандартом, соответствующим профессиональной деятельности выпускников ординатуры по каждой специальности, а с другой стороны, подготовиться к сдаче первичной специализированной аккредитации.

При формировании оценочных средств государственной итоговой аттестации мы также использовали метод кейс-заданий. Государственный итоговый экзамен у ординаторов проводится устно в виде собеседования по билетам, каждый из которых включает одно кейс-задание – описание ситуации в профессиональной деятельности – и перечень вопросов и (или) заданий к ситуации, отражающих освоение всех компетенций, выносимых на проверку, в соответствии с требованиями ФГОС ВО.

ВЫВОДЫ

Таким образом, с 2019 года ПГФА ведет подготовку кадров высшей квалификации в ординатуре по фармацевтическим специальностям по образовательным программам, процесс формирования которых описан в статье.

Следует отметить, что ПГФА является площадкой для проведения первичной специализированной аккредитации, что дает возможность выпускникам ординатуры пройти все этапы аккредитации и получить допуск к осуществлению ими профессиональной деятельности на новых должностях [11].

По состоянию на февраль 2023 года в ПГФА по образовательным программам подготовки кадров высшей квалификации обучились 22 ординатора, которые в дальнейшем благополучно сдали аккредитацию и получили право осуществления фармацевтической деятельности на новых должностях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Федеральный закон от 29.12.2012 №273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации».*

2. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 22.05.2017 №428н «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области управления фармацевтической деятельностью».
3. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 22.05.2017 №427н «Об утверждении профессионального стандарта «Провизор-аналитик».
4. Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 22.05.2017 №430н «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист по промышленной фармации в области производства лекарственных средств».
5. Федеральный закон Российской Федерации от 21.11.2011 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
6. Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации от 27.08.2014 №1142 «Об утверждении федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по специальности 33.08.01 «Фармацевтическая технология» (уровень подготовки кадров высшей квалификации).
7. Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации от 27.08.2014 №1143 «Об утверждении федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по специальности 33.08.02 «Управление и экономика фармации» (уровень подготовки кадров высшей квалификации).
8. Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации от 27.08.2014 №1144 «Об утверждении федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по специальности 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» (уровень подготовки кадров высшей квалификации).
9. Михайлова И.В., Юдаева Ю.А., Неволина В.В. Профессиональное саморазвитие будущего провизора в симуляционном обучении // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – №3(105). – С. 68–72.
10. Мурашкина И.А., Посохина А.А. Применение современных педагогических технологий на практических занятиях по дисциплине «Фармацевтическая технология» в Иркутском государственном медицинском университете // Система менеджмента качества: опыт и перспективы. – 2022. – №11. – С.184–187.
11. Малеева Т.Л., Шильникова С.В. Опыт подготовки и аккредитации фармацевтических специалистов в Пермской государственной фармацевтической академии / Сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. – 2021. – Пермь. – С. 153–157.
12. Малеева Т.Л., Шильникова С.В. Методические подходы к разработке информационных и образовательных технологий по вопросам рационального питания детей раннего возраста // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2018. – №3(21). – С. 32–38.

FORMATION OF EDUCATIONAL TRAINING PROGRAMS FOR PHARMACISTS IN RESIDENCE IN PERM STATE PHARMACEUTICAL ACADEMY

T.L. Maleeva, S.V. Shilnikova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

The article presents the experience of developing educational programs for training highly qualified personnel in residency in the specialties: pharmaceutical technology, management and economics of pharmacy, pharmaceutical chemistry and pharmacognosy in the form of four stages, taking into account the requirements of educational standards, professional standards, as well as the procedure for admission to pharmaceutical activities. The authors show the results of comparing universal and professional competencies with labor functions, which formed the basis for the development of educational programs and its structural elements. The implementation of these programs has made it possible to prepare highly qualified pharmaceutical personnel who have successfully passed all stages of primary specialized accreditation and received admission to carry out their professional activities in new positions.

Keywords: residency, professional standard, federal state educational standard, universal competencies, professional competencies

УДК 615.224.615.216.001.891.53

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.28.17.008>

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 2'-БРОМФЕНИЛАМИДА 3-N,N-ДИЭТИЛАМИНОПРОПАНОВОЙ КИСЛОТЫ

О.В. Гашкова, канд. фарм. наук, доцент кафедры общей и органической химии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, Artucha2011@yandex.ru

И.П. Рудакова, доктор мед. наук, профессор кафедры физиологии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, rudakova.i@list.ru

А.В. Старкова, доктор мед. наук, профессор кафедры физиологии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, allaperm@list.ru

Осуществлен синтез нового производного анилокаина (Ан-10). У 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты нитрата (Ан-10) проведена скрининговая оценка антиаритмической активности соединения на модели аритмии, вызванной внутривенным введением мышам 3% раствора хлорида кальция, на модели аритмии, вызванной строфантоном К, и использована адреналиновая модель аритмии. Проведено исследование влияния соединения Ан-10 на свертываемость крови.

Ключевые слова: 2'-бромфениламид 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты нитрат (Ан-10), антиаритмическая активность, влияние на гемостаз

Нарушения ритма сердца относятся к числу наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Они могут быть обусловлены как органическими поражениями сердца, так и его функциональными расстройствами [1]. Механизмы развития аритмий различны, поэтому для их лечения необходимы лекарственные средства с широким спектром антиаритмического действия. В связи с этим совершенствование фармако-

логических методов устранения и предупреждения аритмий и поиск новых лекарственных средств является важным направлением в борьбе с расстройствами ритма сердца.

Целью исследования явилось изучение антиаритмического действия нового соединения, относящегося к производным анилокаина, синтезированного на кафедре органической химии Пермской государственной фармацевтической академии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2'-бромфениламид 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты (анилокаин) был получен путем ацилирования 2-броманилина хлорангидридом 3-хлорпропановой кислоты с последующим аминированием диэтиламином и пропускиванием сухого HCl через эфирный раствор 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты по следующей схеме 1 [2].

С целью исследования влияния аниона кислоты на биологическую активность 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты была получена его соль с азотной кислотой (Ан-10) по схеме 2.

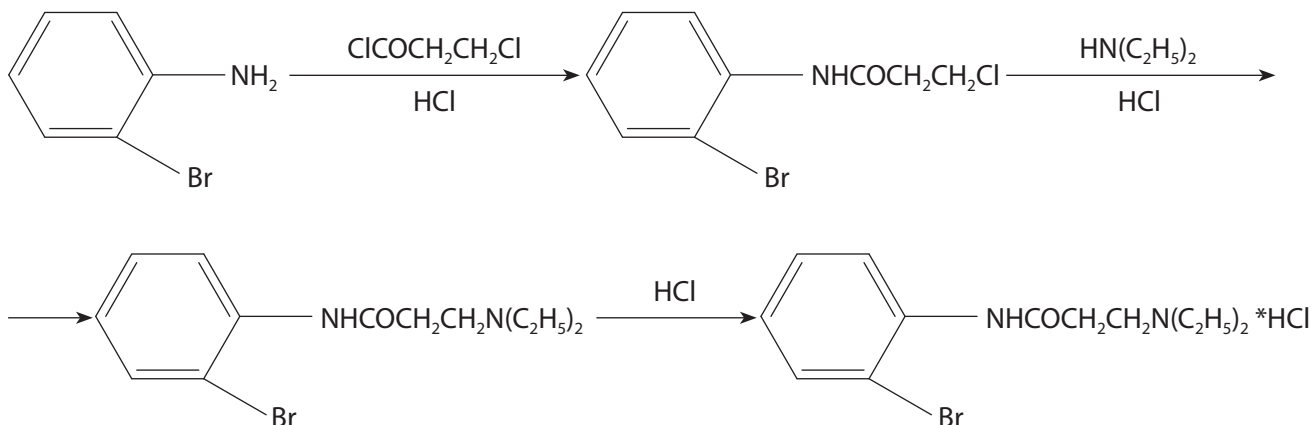


СХЕМА 1. Получение 2'-бромфениламид 3-N,N-диэтиламино-пропановой кислоты (анилокаин)

Соль представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, растворимое в воде, этаноле, ацетонитриле, ДМФА, не растворимое в гексане, бензоле, ацетоне. Выходы, температура плавления, растворитель для перекристаллизации приведены в табл. 1.

В спектре ЯМР ¹H 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты (основание) имеются: триплет шести протонов двух CH₃-групп этильного радикала при 1,05–1,30 м.д., в области 2,6–3,1 м.д. прописывается квадруплет четырех протонов двух CH₂-групп этильного радикала и синглет четырех протонов двух CH₂-групп углеродной цепи, мультиплет четырех протонов ароматического кольца при 6,9–7,6 м.д., синглет протона NH-группы при 10,1 м.д. Наличие в структуре соединений анионов кислот было доказано

с помощью вышеописанных качественных реакций [3].

Для оценки активности были выбраны модели с использованием химических веществ, аритмогенное действие которых связано с влиянием на мембрану кардиомиоцитов, чтобы иметь возможность сделать предположение о возможном механизме действия нового вещества.

В опытах на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 18–25 г определяли острую токсичность соединений при внутривенном способе введения и проводили скрининговую оценку антиаритмической активности соединения на модели аритмии, вызванной внутривенным введением мышам 3% раствора хлорида кальция производства ОАО «Дальхимфарм» (Россия) в дозе

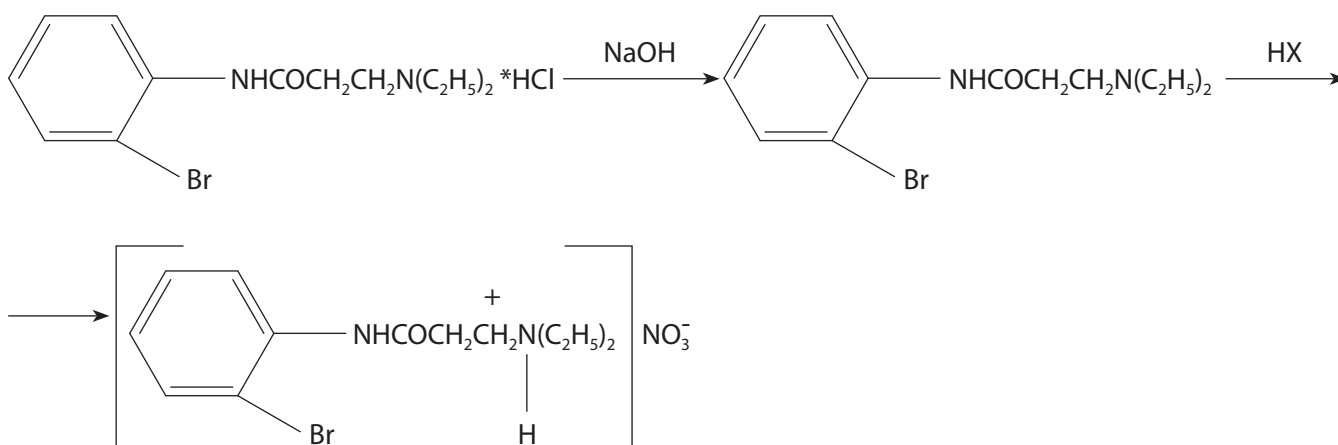


СХЕМА 2. Получение соли анилокаин с азотной кислотой (Ан-10)

Таблица 1

ВЫХОДЫ, ТЕМПЕРАТУРА ПЛАВЛЕНИЯ, РАСТВОРИТЕЛЬ ДЛЯ ПЕРЕКРИСТАЛЛИЗАЦИИ АНИЛОКАИНА И АН-10

Соединение	R	X ⁻	Выход, %	Т. пл., °С /растворитель
Анилокаин	H	Cl ⁻	83,5	115–116/ацетон
Ан-10	H	NO ₃ ⁻	75,8	112–114/ацетон

280 мг/кг. Определяли среднесмертельные и эффективные антиаритмические дозы по методу Прозоровского В.Б. [4]. Активность соединения оценивали по средней эффективной дозе (ЭД₅₀) и антиаритмическому индексу (АИ = ЛД₅₀/ЭД₅₀).

Антиаритмическое действие наиболее активного соединения изучали на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 18–25 г на модели аритмии, вызванной строфантин К производства АО «Галичфарм» (Украина), который вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг через 2 мин. после введения исследуемого вещества [5]. Учитывали частоту гибели животных и продолжительность их жизни. Соединение вводили внутривенно в эффективной противоаритмической дозе.

Кроме того, для исследования активности вещества была использована адреналиновая модель аритмии. опыты проводили на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 18–24 г. У наркотизированных животных регистрировали ЭКГ с помощью электрокардиографа одноканального ЭК1Т-1/3-07 «АКСИОН» (изготовитель – ООО «Концерн «Аксион», Россия) в II стандартном отведении. Затем в хвостовую вену вводили раствор адреналина производства ФГУП «Московский эндокринный завод» (Россия) в дозе 100 мкг/кг. Через 1–2 мин. у мышей развивалась фибрилляция желудочков сердца. ЭКГ регистрировали через 1, 2, 3, 5, 10, 20 мин. после введения адреналина. Изучаемое соединение вводили в эффективной дозе внутривенно

за 1–2 мин. до введения адреналина. Эффективность исследуемого вещества оценивали по его способности предотвращать нарушения сердечного ритма и гибели животных от фибрилляции [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве препарата сравнения животным вводили лидокаин производства ОАО «Биохимик» (Россия) в эффективной противоаритмической дозе. Данные, полученные в результате опытов, отражены в табл. 2.

ЛД₅₀ исследуемого соединения составила 36,8 мг/кг, эффективная антиаритмическая доза (ЭД₅₀) – 6,5 мг/кг, т. е. АИ оказался равным 5,7. Его величина соответствует АИ лидокаина (5,1), однако по сравнению с показателем анилокаина (3,7) он оказался несколько выше.

Установлено, что после внутривенного введения строфантина К у всех животных возникает нарушение ритма сердца. При этом в контрольной серии опытов гибель на фоне возникшей аритмии наступает в 62% случаев.

При введении исследуемого вещества гибель животных составила 20%, что значительно меньше по сравнению с контролем (p=0,024). При использовании анилокаина и лидокаина смертность зарегистрирована также в 10% и 20% случаев соответственно.

В опытах с введением как нового соединения, так и лидокаина продолжительность

Таблица 2

АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЯ АН-10 В УСЛОВИЯХ АРИТМИЙ, ВЫЗВАННЫХ ВВЕДЕНИЕМ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ МЫШАМ, М±М

Соединения	ЭД ₅₀ , мг/кг	Хлорид-кальциевая аритмия	Строфантиновая аритмия		Адреналиновая аритмия
		АИ (ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀)	Продолжительность жизни, мин	Гибель, %	Гибель, %
Контроль	–	–	19,0±1,0	62	70
Ан-10	6,5	5,7	23,7±9,4 p=0,575	20 p=0,024	100
Анилокаин	16,3	3,7	38,0±0,21 p=0,01	10 p=0,05	70
Лидокаин	7,7	5,1	17,5±1,5 p=0,826	20 p=0,028	50

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем.

жизни после введения строфантина К у погибших животных составила 17,5–23,7 мин., т. е. по сравнению с контролем практически не менялась, однако в 1,8 раза оказалась меньше по сравнению с данным показателем анилокаина.

Было установлено, что исследуемое соединение не предупреждает расстройства ритма, вызванного внутривенным введением адреналина. Из результатов эксперимента следует, что при создании аритмии, вызванной введением

адреналина мелким животным в контрольной серии, гибель мышей наблюдается в 70% случаев. Внутривенное введение соединения Ан-10 в дозе, равной ЭД₅₀, не предупреждает развития аритмии. Гибель животных наступает в 100% случаев.

Известно, что среди фармакологических эффектов антиаритмических препаратов оказывается и влияние на систему гемостаза. В связи с этим была проведена оценка свертываемости крови с помощью коагулометра

Таблица 3

ИЗМЕНЕНИЕ СВЕРТЫВАЕМОСТИ КРОВИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СОЕДИНЕНИЯ АН-10, М±М

Шифр соединения	Время свертывания, сек., контроль	Время свертывания, сек., опыт	% изменения свертываемости	p
Ан-10	136,2±8,33	111,1±4,55	+18,4%	<0,05
Этамзилат	300,8±9,59	251,7±9,55	+16,3%	<0,01

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем

АПГ4-02-П (изготовитель – ООО «ЭМКО», Россия). Для исследования использовали цитратную (3,8%) кровь (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения. Для контроля вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения использовали 0,2% раствор этамзилата производства «Лек Фармасьютикалс д.д.» (Словения), который добавляли в кровь в количестве 50 мкл. Затем пробы инкубировали в течение 60 сек. Добавляли 50 мкл 1% раствора хлорида кальция («Технология-Стандарт», Россия) и приступали к измерению времени свертывания крови, что фиксировалось прибором механическим способом [7].

При исследовании влияния соединения Ан-10 на свертываемость крови были получены результаты, представленные в табл. 3.

Из полученных результатов видно, что соединение Ан-10 ускоряет процессы свертывания крови по сравнению с контрольным образцом на 18,4%. Препарат сравнения этамзилат увеличивает свертываемость крови на 16,3% по сравнению с контролем.

ВЫВОДЫ

Таким образом, новое производное анилокаина – Ан-10 проявило выраженный антиаритмический эффект, выявленный на моделях хлоридкальциевой и строфантиновой аритмии, но не показало активности на модели адреналиновой аритмии. Это дает возможность предположить, что новое соединение скорее обладает способностью подавлять повышенный автоматизм эктопических участков миокарда, блокируя медленный ток ионов натрия в кардиомиоцитах или медленные кальциевые каналы, чем способностью блокировать адренорецепторы.

Ан-10 обладает выраженным гемостатическим действием, сопоставимым с эффектом препарата сравнения этамзилатом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Патофизиология сердечно-сосудистой системы / под ред. Л. Лилли; пер. с англ. – 3-е изд., испр. и перераб. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – С. 672.*
2. *Панцуркин В.И., Алексеева И.В. Анилокаин, поиск, свойства. Начальный опыт применения лекарственных форм в медицинской практике / Монография. – Пермь: ГОУ ВПО «ПГФА Росздора». – 2006. С. 174.*
3. *Государственная фармакопея Российской Федерации – XIV изд. Т. 1–4 [Электронный ресурс]. – URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>*
4. *Прозоровский В.Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В.Б. Прозоровский, М.П. Прозоровская, В.М. Демченко // Фармакология и токсикология. – 1978. – Т. 41, №4. – С. 497–502.*
5. *Каверина Н.В. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений ритма сердца / Н.В. Каверина, З.П. Сенова // Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств. – Москва: ФК МЗ СССР, 1982. – Ч. 4. – С. 95–106.*
6. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. – Москва: Гриф и К, 2012. – С. 944.*
7. *Анализатор показателей гемостаза АПГ4-02-П. Техническое описание и инструкция по эксплуатации. – М.: ООО ЭМКО, 2012. – С. 61.*

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF A NEW DERIVATIVE OF 2'-BROMOPHENYLAMIDE 3-N,N-DIETHYLAMINOPROPANOIC ACID

O.V. Gashkova, I.P. Rudakova, A.V. Starkova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

The synthesis of a new anilocaine derivative was carried out (An-10). In 2'-bromophenylamide 3-N,N-diethylaminopropane acid nitrate (An-10), a screening assessment of the antiarrhythmic activity of the compound was performed on a model of arrhythmia caused by intravenous administration of 3% calcium chloride solution to mice, on a model of arrhythmia caused by strophanthin K, and an adrenaline model of arrhythmia was used. The effect of the An-10 compound on blood clotting was studied.

Keywords: 2'-bromophenylamide 3-N,N-diethylaminopropanoic acid nitrate (An-10), antiarrhythmic activity, effect on hemostasis

УДК 547.398 + 547.583

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.27.12.009>

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Н.В. Колотова, канд. хим. наук, доцент кафедры аналитической химии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, kolotova.nina49@mail.ru

С.В. Чащина, канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, physiology@list.ru

Исследована анальгетическая активность для двенадцати производных 1,4-дикарбонных кислот на белых беспородных мышцах массой 22–28 г по методике «уксусные корчи». Эталоны сравнения – метамизол натрия и нимесулид. Одиннадцать соединений проявили анальгетическую активность, превосходя по данному показателю метамизол натрия. У четырех соединений, введенных внутривентриально в дозе 50 мг/кг, обнаружена активность, в 2,8 раза превышающая действие метамизола натрия и в 1,3 раза – активность нимесулида. Изучение противовоспалительной активности 15 производных 1,4-дикарбонных кислот проводилось на крысах-самцах массой 180–240 г на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% водного раствора каррагенина. В качестве препарата сравнения использован нимесулид. Четыре соединения при пероральном введении в дозе 50 мг/кг проявляют выраженную противовоспалительную активность, близкую к эффективности препарата сравнения. Одно из изученных соединений обладает значительной противовоспалительной и анальгетической активностью.

Ключевые слова: производные 1,4-дикарбонных кислот, анальгетическая активность, противовоспалительная активность

Боль является основным субъективным признаком возникновения патологических изменений и различного рода нарушений в организме, возникающих прежде проявления всех других признаков заболевания. Главной задачей лечения болевого синдрома является избавление больного от мучений с помощью болеутоляющих средств. В настоящее время для купирования боли в медицинской практике применяют нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), обладающие уникальным сочетанием противовоспалительного, болеутоляющего и жаропонижающего эффектов, каждый из которых может быть выражен в разной степени [1,2]. Прием НПВС осуществляется преимущественно пероральным путем в виде дозированных порошков, таблеток, капсул, сиропов. Многие ненаркотические анальгетики, применяемые во врачебной практике, имеют нежелательные побочные эффекты, а наркотические препараты, применяемые при хронических болях, при длительном применении приводят к привыканию и развитию зависимости [3].

Из литературных источников известно, что для некоторых производных 1,4-дикарбонных кислот характерна значительная анальгетическая активность и выраженное противовоспалительное действие. Среди них обнаружены соединения, обладающие обоими видами активности [4,5].

В связи с этим поиск соединений с выраженным анальгетическим и противовоспалительным эффектом среди производных 1,4-дикарбоновых кислот является перспективным.

В данной статье приведены результаты исследований анальгетического и противовоспалительного действия ряда производных 1,4-дикарбоновых кислот, проводимых на кафедрах аналитической химии и физиологии Пермской государственной фармацевтической академии.

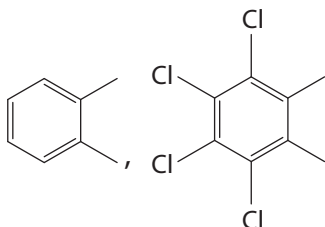
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов изучения биологической активности были выбраны монозамещенные амиды янтарной, малеиновой, цитраконовой и фталевых кислот и соли гидразидов этих кислот, общая формула которых:



где

X-Y: $-CH_2-CH_2-$, $-CH=CH-$, $-CH=C(CH_3)-$,



R: ацил-CONH- ацил-CONHNNH- (**ацил:** алифатические, ароматические и гетероциклический заместители, табл.), **R¹:** H, K, Na, Mg.

Исследованные соединения получены на кафедре аналитической химии ПГФА по известным методикам [6,7].

Изучение биологической активности в экспериментах на животных проведено в соответствии с методическими рекомендациями, изложенными в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [8]. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований

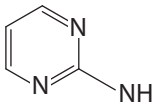
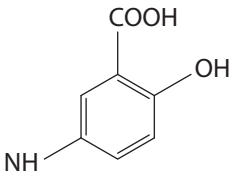
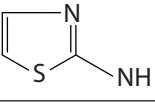
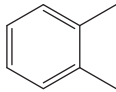
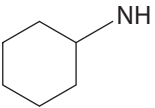
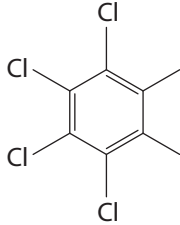
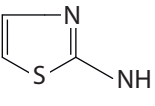
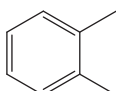
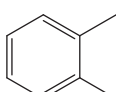
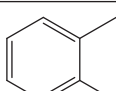
в РФ (ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики») и Приказу МЗ РФ от 1 апреля 2016 года №199н «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP), с соблюдением норм этики.

Оценка анальгетической активности проведена на кафедре физиологии ПГФА на белых беспородных мышах-самцах массой 22–28 г, содержащихся на обычном рационе вивария, в тесте «уксусные корчи» [8]. Исследуемые соединения вводили внутривентрально в виде взвеси в 1% растворе крахмала в дозе 50 мг/кг за 30 мин. до введения уксусной кислоты. Характерные сокращения мышц брюшной стенки («корчи») вызывали внутривентральным введением уксусной кислоты в виде 0,75% раствора в объеме 0,1 мл/10 г массы тела, подсчет «корчей» начинали сразу после введения и производили в течение 15 мин. Эффект оценивали по уменьшению количества «корчей» по сравнению с контрольными животными. В качестве эталонов сравнения использованы метамизол натрия (анальгин (МНН: метамизол натрия) – раствор для внутривенного и внутримышечного введения, ПАО «Биосинтез», Россия) и нимесулид (нимесил (МНН: нимесулид) – гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь, «Лабораториос Менарини» С. А., Испания) в дозе 50 мг/кг, которые вводились аналогично исследуемым соединениям. Соединение 9 (табл. 1) в дозе 50 мг/кг проявляет признаки интоксикации (угнетение двигательной активности), поэтому оно было исследовано в дозе 25 мг/кг. В контрольную и опытные группы было включено по 6 мышей. Результаты статистически обработаны с вычислением критерия Фишера – Стьюдента [9]. Эффект считали достоверным при $p < 0,05$. Результаты оценки анальгетической активности соединений приведены в табл. 1.

Исследование противовоспалительной активности производных 1,4-дикарбоновых кислот проводилось на крысах-самцах массой 180–240 г (группа включала 6 животных)

Таблица 1

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Соединение	X-Y	R	R ¹	Количество корчей	Уменьшение корчей по сравнению с контролем, %	P по сравнению с контролем
1.	-CH ₂ -CH ₂ -	4-CH ₃ CONHC ₆ H ₄ NH	H	8,8±4,7	62,71	<0,05
2.	-CH=CH-		H	3,0±1,3	87,29	<0,05
3.	-CH=CH-		H	1,7±0,8	92,79	<0,05
4.	-CH=C(CH ₃)-		H	2,0±1,2	91,53	<0,05
5.			H	3,0±2,3	87,29	<0,05
6.			H	5,7±3,2	75,85	<0,05
7.	-CH ₂ -CH ₂ -	(C ₆ H ₅) ₂ C=NNH	Na	7,7±2,2	67,37	<0,05
8.	-CH ₂ -CH ₂ -	(C ₆ H ₅) ₂ C=NNH	K	7,3±1,7	69,07	<0,05
9.*	-CH=CH-	CH ₃ CONHNNH	K	5,7±3,5	75,85	<0,05
10.		CH ₃ CONHNNH	Na	15,2±4,2	35,59	>0,05
11.		CH ₃ CONHNNH	K	1,2±0,9	94,92	<0,05
12.		2-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNNH	Mg	1,5±0,8	93,64	<0,05
Эталоны		Нимесулид		7,5±2,2	68,22	<0,05
		Метамизол натрия		16,0±3,5	32,2	>0,05
Контроль				23,6±3,5	–	–

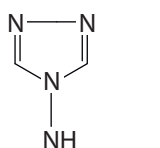
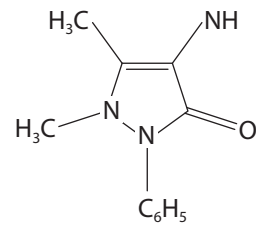
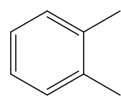
* Соединение исследовано в дозе 25 мг/кг.

на модели острого асептического воспаления, индуцированного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% водного раствора каррагинина. Объем стопы оценивали онкометрически до введения и через 3 часа после введения каррагинина, на пике воспалительной реакции. Определяли увеличение объема стопы в процентах к исходному уровню [8]. Исследуемые вещества вводили внутривенно в виде взвеси в 1% растворе крахмала в дозе 50 мг/кг за 1 час до индукции

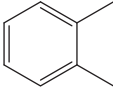
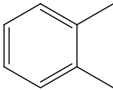
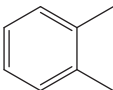
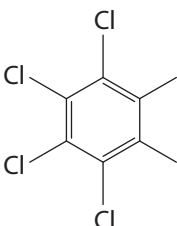
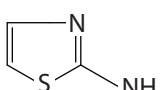
воспаления. Контролем служили животные, которым аналогичным образом вводили 1% раствор крахмала. В качестве препарата сравнения использован нимесулид в дозе 50 мг/кг, вводимый аналогичным образом. Статистическую обработку проводили с вычислением критерия Стьюдента [9]. Противовоспалительный эффект оценивали по показателю торможения отека, выраженному в процентах к результатам контрольной группы. Результаты эксперимента приведены в табл. 2.

Таблица 2

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Соединение	X-Y	R	R ¹	Объем стопы до введения флогогена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение отека через 3 ч, %
1.	-CH ₂ -CH ₂ -	CF ₃ CONHNNH	H	1,38±0,04	1,93±0,05	40,99±4,28*	38,33
2.	-CH ₂ -CH ₂ -	4-CH ₃ C ₆ H ₄ CONHNNH	H	1,26±0,05	2,24±0,12	78,27±9,46	-17,75
3.	-CH ₂ -CH ₂ -	2-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNNH	H	1,24±0,03	2,29±0,13	85,72±11,84	-28,96
4.	-CH ₂ -CH ₂ -	(C ₆ H ₅) ₂ C=NNH	Na	1,05±0,05	1,74±0,10	65,73±5,76	1,11
5.	-CH ₂ -CH ₂ -	(C ₆ H ₅) ₂ C=NNH	K	1,12±0,03	1,72±0,05	53,58±7,64	19,39
6. *	-CH=CH-	CH ₃ CONHNNH	K	1,07±0,03	1,77±0,04	66,39±3,78	0,12
7.	-CH=CH-	HOOC(CH ₂) ₅ NH	H	1,25±0,04	1,81±0,06	45,55±4,49*	31,47
8.	-CH=CH-	2-CF ₃ C ₆ H ₄ NH	H	1,26±0,04	1,84±0,06	45,88±4,26*	30,97
9.	-CH=CH-		H	1,19±0,05	1,76±0,07	49,26±5,65	25,89
10.	CH=C(CH ₃)		H	1,29±0,04	1,94±0,07	50,73±6,11	23,68
11.		C ₂ H ₅ COCH ₂ CONHNNH	H	1,23±0,05	2,10±0,08	72,73±7,26	-9,42

Окончание таблицы 2

Соединение	X-Y	R	R ¹	Объем стопы до введения флогогена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение отека через 3 ч, %
12.		CH ₃ CONHNH	Na	1,37±0,07	2,19±0,12	60,31±4,16	9,26
13.		CH ₃ CONHNH	K	1,24±0,04	2,07±0,07	67,13±4,31	-0,99
14.		2-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	Mg	1,15±0,03	1,66±0,05	43,98±4,18*	33,83
15.			H	1,19±0,02	1,84±0,15	54,29±10,59	18,32
Эталон	Нимесулид			1,14±0,05	1,53±0,07	33,90±6,78*	48,99
Контроль				0,77±0,05	1,26±0,08	66,47±10,19	-

* Соединение исследовано в дозе 25 мг/кг.

** Различие достоверно по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакологический скрининг на наличие анальгетической активности проводили для шести амидов (соединения **1...6**) и шести солей гидразидов (соединения **7...12**) 1,4-дикарбоновых кислот (табл. 1). Все соединения, за исключением соединения **10**, проявляют анальгетическую активность, уменьшая количество «корчей» по сравнению с контролем, при этом все вещества превосходят по данному показателю референтный препарат – метамизол натрия (при $p < 0,05$). Среди амидов 1,4-дикарбоновых кислот более значительной анальгетической активностью обладают 3-карбоксо-4-гидроксифениламид

малеиновой кислоты (**3**) и тиазолиламид цитраконовой кислоты (**4**), эффект которых превышает в 1,3 раза активность нимесулида и в 2,8 раза эффект метамизола натрия. Среди солей гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот более высокую активность, чем нимесулид, проявили калиевая соль ацетилгидразида (**11**) и магниевая соль 2-аминофенилгидразида (**12**) фталевой кислоты. Анальгетическая активность этих соединений в 1,35 раза превышает действие нимесулида и в 2,8 раза – активность метамизола натрия.

Противовоспалительная активность была изучена для четырех гидразидов (соединения **1...3, 11**), шести солей гидразидов

(соединения **4...6, 12...14**) и пяти амидов (соединения **7...10, 15**) 1,4-дикарбоновых кислот (табл. 2). Обнаружены четыре соединения (**1, 7, 8, 14**), которые в дозе 50 мг/кг проявляют выраженную противовоспалительную активность, близкую к эффективности препарата сравнения нимесулида. Такой активностью обладают 5-карбоксихипентиламид (соединение **7**) и 2-трифторфениламид (**8**) малеиновой кислоты, трифторацетилгидразид янтарной кислоты (**1**) и магниевая соль 2-аминофенилгидразида фталевой кислоты (**14**). У остальных соединений на модели каррагенинового воспаления эффекта не обнаружено.

Одно из исследованных соединений – магниевая соль 2-аминофенилгидразида фталевой кислоты (соединение **14**) – обладает выраженной противовоспалительной и анальгетической активностью. Можно предположить, что одновременное наличие анальгетической и противовоспалительной активности свидетельствует о возможности соединения **14** ингибировать циклооксигеназу и вследствие этого блокировать синтез простагландинов в очаге воспаления.

ВЫВОДЫ

1. Исследование производных 1,4-дикарбоновых кислот на наличие анальгетического действия показало, что большинство изученных соединений проявили более выраженную анальгетическую активность, чем эффект метамизола натрия, при этом активность четырех соединений достоверно превосходит эффект препарата сравнения нимесулида.

3. Из пятнадцати исследованных соединений на наличие противовоспалительного действия четыре производных 1,4-дикарбоновых кислот проявили противовоспалительную активность, сопоставимую с эффектом нимесулида.

4. Обнаружено соединение, обладающее одновременно выраженным противовоспалительным и анальгетическим действием.

5. Показана перспективность поиска веществ с анальгетической активностью среди производных 1,4-дикарбоновых кислот.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 год.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств / под ред. Ю.Д. Игнатова, В.Г. Кукеса, В.И. Мазурова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 256 с.
2. Лекарственная терапия воспалительного процесса: Экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов / Я.А. Сигидин, Г.Я. Шварц, А.П. Арзамасцев, С.С. Либерман. – М.: Медицина, 1988. – 240 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Новая волна», 2006. – 1200 с.
4. Колотова Н.В., Чащина С.В. Анальгетическая активность монозамещенных амидов и гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств, 2019. – №2(24). – С. 34–39.
5. Колотова Н.В., Чащина С.В. Исследование противовоспалительной и анальгетической активности производных 1,4-дикарбоновых кислот // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020. – №7(23). – С. 9–14.
6. Колотова Н.В., Козьминых Е.Н., Колла В.Э. и др. Замещенные амиды и гидразиды 1,4-дикарбоновых кислот. 7*. Синтез и фармакологическая активность некоторых

- ацилгидразидов малеиновой, янтарной и фталевой кислот // Хим.-фарм. журнал. – 1999. – Т. 33. – №5. – С. 22–28.
7. Колотова Н.В., Скворцова Н.Л., Козьминых В.О. и др. Синтез биологически активных ацилгидразидов малеиновой, янтарной и фталевой кислот // Рукопись деп. ВИНТИ 29.09. – 1997. – №2940–В97. – С. 1–31.
 8. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – Москва, Гриф и К, 2012, ч. 1. – 944 с.
 9. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л.: Медгиз, 1963. – 146 с.

ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF DERIVATIVES 1,4-DICARBOXYLIC ACIDS

N.V. Kolotova, S.V. Chashchina

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

Analgesic activity was studied for twelve derivatives of 1,4-dicarboxylic acids on white mongrel mice weighing 22–28 g by the method of “acetic cramps”. The reference standards are sodium metamizole and nimesulide. Eleven compounds showed analgesic activity, surpassing metamizole sodium in this indicator. In four compounds administered intraperitoneally, at a dose of 50 mg/kg, an activity was found that was 2.8 times higher than the action of metamizole sodium and 1.3 times the activity of nimesulide. The study of the anti-inflammatory activity of fifteen derivatives of 1,4-dicarboxylic acids was carried out on male rats weighing 180–240 g on a model of acute inflammatory edema caused by subplantar injection of 0.1 ml of 1% aqueous solution of carrageenan into the hind paw of a rat. Nimesulide was used as a reference drug. Four compounds, when administered orally at a dose of 50 mg/kg, exhibit pronounced anti-inflammatory activity, close to the effectiveness of the reference drug. One of the studied compounds has significant anti-inflammatory and analgesic activity.

Keywords: derivatives of 1,4-dicarboxylic acids, analgesic activity, anti-inflammatory activity

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЫРЬЯ ЛИСТЬЕВ КУБЫШКИ ЖЕЛТОЙ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

Д.В. Дрик, студентка Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), drikdiana202@mail.ru

Н.В. Нестерова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), nesterova_n_v_1@staff.sechenov.ru

Анализ научной литературы и соответствующей нормативной документации показал тенденцию к исследованию биологически активных компонентов листьев кубышки желтой и изучению влияния извлекаемой алкалоидной фракции на молекулярные и клеточные структуры, участвующие в развитии заболеваний, что позволяет рассматривать указанный вид сырья в качестве перспективного источника получения новых лекарственных средств.

Ключевые слова: кубышка желтая, очищенный экстракт листьев кубышки желтой, NFkB, димерные сесквитерпеновые тиаалкалоиды, 6,6' – дигидрокситиобинуфаридин

Кубышка желтая – одно из самых распространенных евро-азиатских водных растений, отличающееся ярким околоцветником, что послужило поводом для создания многочисленных мифов и легенд. Однако помимо внешнего очарования кубышка желтая известна и своими лечебными противовоспалительными свойствами, которые используются по сей день. Подробное ботаническое описание кубышки желтой, сопровождаемое иллюстрациями, содержалось в Atlas des plantes de France.

Корневище данного растения входит в травяной сбор японской народной медицины

Jidabokuippo, применяемой при ушибах и отеках. Даже известные нестероидные противовоспалительные препараты не показали большую эффективность при лечении пациентов с переломами ребер по сравнению с исполь-



РИС. 1. Ботаническая иллюстрация *Nuphar lutea* (L.)

зованием *Jidabokuippo*. Японский сбор позволил не только ускорить выздоровление, его использование оказалось и гораздо более экономически выгодным [1]. Детальный опрос народных целителей и травников в Ливане показал широту использования экстракта листьев кубышки желтой в качестве противоревматоидного средства [2]. Как бореальная растительность кубышка была также известна среди коренных народов Канады и использовалась при борьбе с мигренью, болью в спине и артритом [3].

Огромную роль в изучении фракции алкалоидов корневищ кубышки сыграли российские ученые Н.Н. Ильинская и А.Д. Кузовков, которые в 1963 году выявили сумму алкалоидов, получивших название нуфаридины, большую часть которых составляют тиобинуфаридины, основным из них является нуфлеин. Химическая структура нуфлеина представлена на рис. 2.

В настоящее время в качестве сырья для заготовки используют именно корневища кубыш-

ки желтой, в которых содержатся ценные алкалоиды группы хинолизидина, производные нуфаридина и прочие биологически активные вещества. Другие части растения исследованы в гораздо меньшей степени, что препятствует широкому использованию растения в современной фармацевтической практике.

Целью данного исследования является комплексное изучение научной литературы, отражающей острую необходимость в расширении сырьевой базы лекарственного растительного сырья путем введения перспективного растительного объекта листа кубышки желтой, а также потребность в стандартизации данного сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для осуществления поставленной задачи были использованы такие методы исследования, как мониторинг отечественных и зарубежных научных статей в периодических

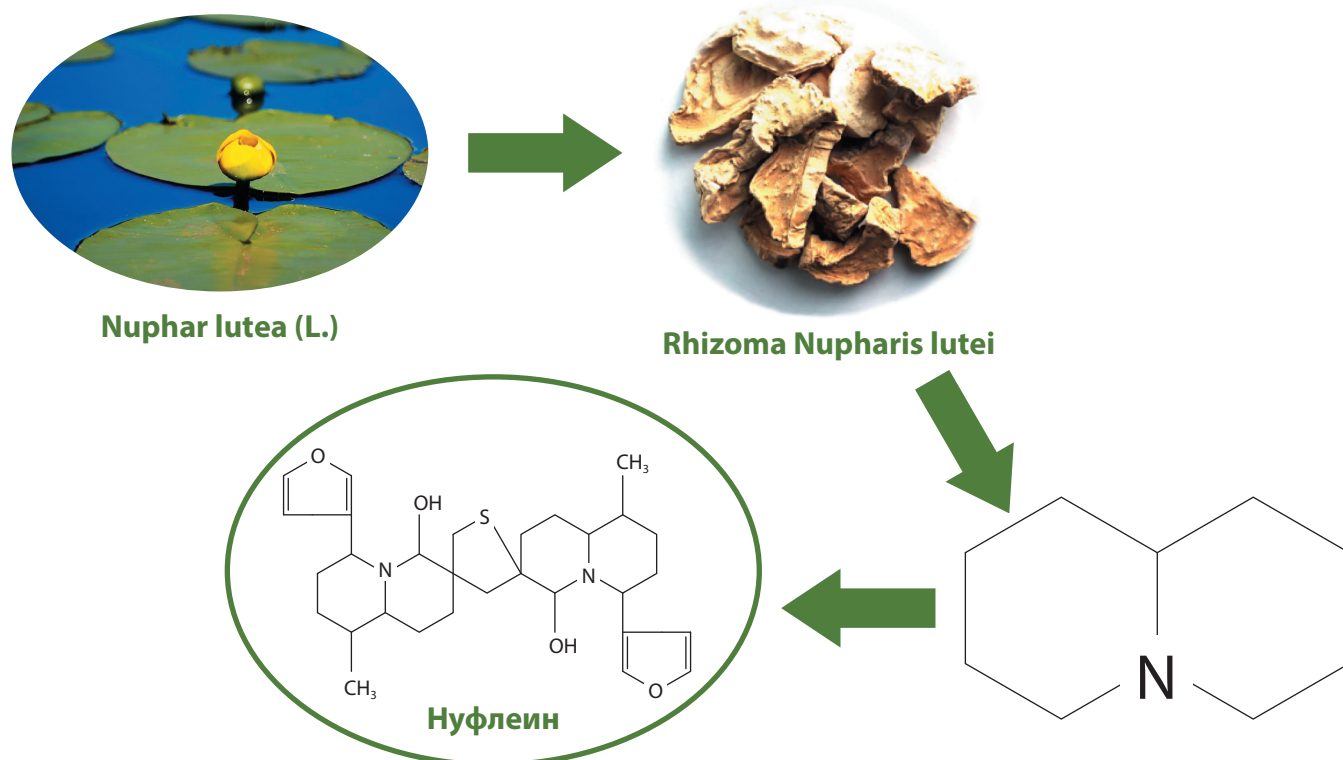


РИС. 2. Химическая структура нуфлеина

изданиях, анализ соответствующей нормативной документации в рамках сформулированной выше цели.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полуочищенный экстракт листьев кубышки желтой, известный в исследовательском сообществе под аббревиатурой NUP, обладает противовоспалительными свойствами благодаря сесквитерпеновым тиаалкалоидам б-гидрокситиобинуфаридину и б-гидрокситионуфлутину В. Данные вещества были выявлены с помощью хроматографии и ЯМР-анализа. Именно эти компоненты вызвали торможение активности NF-κB (фактора транскрипции, участвующего во многих патологических и биологических процессах), чем обусловлено возможность применения экстракта против воспаления [4].

Аналогичный механизм действия NUP был продемонстрирован на моделях острого септического шока. Предварительная обработка NUP мышей, которым вводили ЛПС, значительно снизила их смертность за счет ингибирования пути NF-κB и моделирования выработки цитокинов и фосфорилирования ERK [5].

Проблема противовирусных препаратов стоит особенно остро, поэтому ученые всего мира нацелены на поиск новых молекулярных и клеточных мишеней. Противовирусные свойства были найдены у кубышки желтой, экстракт листьев которой содержит сесквитерпеновые тиаалкалоиды [4]. Было выявлено, что NUP в нетоксических дозах способен защитить клетки от цитотоксической активности вируса кори (MV). Клетки, которые были обработаны предварительно NUP, показали 1000-кратное уменьшение вирусных частиц, а лечение с помощью NUP уже инфицированных вирусом кори клеток дает снижение количества вирусного белка [6]. Наряду с этим был проведен похожий эксперимент

с респираторно-синцитиальным вирусом человека (RSV) для понимания широты действия экстракта листьев кубышки желтой. По предварительным результатам, противовирусная активность NUP в данном эксперименте была схожа с показателями предыдущего исследования с вирусом кори [6].

Однако этим фармакологические эффекты NUP не ограничиваются. Экстракт с алкалоидной фракцией эффективен при лейшманиозе, причем действует как на амастиготы, так и на промастиготы данного простейшего. NUP в концентрации 1,25 мкг/мл за три дня лечения полностью устранил внутриклеточных паразитов [7]. Данный эффект опосредован известным влиянием NUP на экспрессию NF-κB. Механизм токсичности экстракта против *Leishmania major* был подробнее изучен у перитонеальных макрофагов мышей [8]. Данные исследования дают основания для стандартизации сырья листьев кубышки желтой с целью использования ее экстракта в качестве противолейшманиозного средства.

Кроме того, активность кубышки желтой применима в борьбе и с другим простейшим паразитом *Trypanosoma brucei*, распространенным в отдельных регионах Африки к югу от Сахары. Известные препараты не только обладают высокой токсичностью, но и усугубляют ситуацию лекарственной устойчивостью. Экстракт кубышки желтой, в отличие от прочих исследуемых растений Северной Америки, показал наибольшую антитрипосомальную активность с IC50 0,42 мкг/мл [9].

NUP также обладает бактерицидным действием. Выделенный из экстракта нуфаридин (б,б' – дигидрокситиобинуфаридин) повлиял на функции нейтрофилов, которые были выделены из клеточной линии человека HL60, в отношении *Aggregatibacter actinomycetem-comitans*, ответственных за воспаление десен. Биологически активное вещество повышало клиренс Aa-JP2 и усиливало фагоцитоз нейтрофилов, что делает возможным применение

компонента при лечении пародонтита после соответствующих исследований [10].

Кубышка желтая уже долгое время также является объектом исследования как средство от рака. Действие нуфлеина было изучено в рамках моделей опухолевых клеток (фибробласты кожи крыс). На клетках рака шейки матки человека HeLa, которые были чувствительны к цитостатикам, доказан высокий цитотоксический эффект нуфлеина [11]. Нуфлеин превзошел в 200 раз активность известного цисплатина, но при этом был в 100 раз менее цитотоксичен в отношении нормальных клеток по сравнению в опухолевыми [12]. Это делает возможным повышение избирательности химиотерапии, что позволит не наносить дополнительный вред здоровым клеткам.

Поскольку NF-κB является ключевым фактором транскрипции, участвующим в воспалительном пути, NF-κB конститутивно активен при большинстве видов рака, и многие из сигнальных путей, вовлеченных в рак, объединены

в сеть с активацией NF-κB [13]. Данный факт использовали и при изучении влияния NUP на меланомные клетки [4,14]. Лечение NUP ингибировало TNFα-индуцированную деградацию IκBα и ядерную транслокацию NF-κB в клетках меланомы, активировало сигнальный путь ERK (путем фосфорилирования). Более того, экстракт ингибирует миграцию клеток, что является важным фактором в определении метастатического потенциала опухолевых клеток. Лечение мышей NUP в комбинации с цисплатином уменьшало метастазирование меланомы B16 в легкие [14]. Таким образом, мощная противоопухолевая активность соединений семейства нуфаридинов подтвердилась [15].

NUP также показал цитотоксическую активность в отношении клеточных линий человека KM-H2 (клетки Ходжкинской лимфомы, LD50 0.25 µg/ml) [4].

Одной из самых распространенных причин смерти мужчин является рак предстательной железы. Данная форма обычно добро-



РИС. 3. Фармакологическая активность алкалоидной фракции, содержащейся в листьях кубышки

качественна и развивается медленно. Однако активация NF-κB и некоторые другие сигналы, связанные с воспалением, способствуют злокачественности рака [16]. Зная об ингибирующем влиянии NUP на NF-κB, можно предположить расширение возможностей использования экстракта листьев кубышки желтой, но это требует дальнейших исследований.

Прочие молекулярные механизмы действия NUP мало исследованы, но первые результаты экспериментов уже появляются. Например, было выявлено, что активный компонент 6,6' – дигидрокситиобинуфаридин усиливает расщепление ДНК, опосредованное топоизомеразой человека IIα и IIβ, в 8 и 3 раза соответственно [17]. Алкалоиды кубышки желтой также способны индуцировать апоптоз в клетках млекопитающих менее чем за 1 ч, что позволяет считать их одними из самых быстрых известных индукторов. 6-гидрокситиобинуфаридин индуцировал быстрый апоптоз в клеточных линиях лимфомы, лейкемии и карциномы, но как ВАХ/ВАК-независимый путь. Он также обошел резистентность клеток хронического лимфоцитарного лейкоза [18]. Стоит акцентировать внимание на том, что очищенный 6,6' – дигидрокситиобинуфаридин показал гораздо более высокую проапоптотическую активность по сравнению с NUP, что было продемонстрировано на клетках острого миелоидного лейкоза AML [19]. Более того, все тот же очищенный DTBN является эффективным ингибитором киназной активности членов семейства протеинкиназы C [20].

Разнообразие фармакологической активности и возможности использования листьев кубышки представлены на рис. 3.

ВЫВОДЫ

1. Анализ научной литературы показывает наличие в листьях кубышки желтой ценных биологически активных веществ алкалоидной

фракции, обуславливающих их потенциал использования в медицинской практике.

2. Несмотря на наличие в литературе данных о присутствии в исследуемом сырье необходимых для лечения заболеваний различной этиологии соединений, отсутствует нормативная документация на листья кубышки желтой в качестве лекарственного растительного сырья, что позволяет направить дальнейшие исследования на стандартизацию сырья и разработку необходимой нормативной документации на листья кубышки желтой.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Nakae H., Yokoi A., Kodama H., Horikawa A. *Comparison of the Effects on Rib Fracture between the Traditional Japanese Medicine Jidabokuippo and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Randomized Controlled Trial // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, – 7 p.*
2. El Beyrouthy M., Arnold N., Delelis-Dusollier A., Dupont F. *Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon // J. Ethnopharmacol, 2008, vol. 120, i. 3, pp. 315–334.*
3. Uprety Y., Lacasse, A., Asselin, H. *Traditional Uses of Medicinal Plants from the Canadian Boreal Forest for the Management of Chronic Pain Syndromes // Pain Pract., 2016, vol. 16, i. 4, pp. 459–466.*
4. Ozer J., Eisner N., Ostrozhenkova E., Bacher A., Eisenreich W., Benharroch D. et al. *Nuphar lutea thioalkaloids inhibit the nuclear factor kappaB pathway, potentiate apoptosis and are synergistic with cisplatin and etoposide // Cancer Biology & Therapy, 2009, vol. 8, i. 19, pp. 1860–1868.*
5. Ozer J., Levi T., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. *Anti-inflammatory effect of a Nuphar lutea partially purified leaf extract in murine models*

- of septic shock // *J. Ethnopharmacol*, 2015, vol. 161, pp. 86–91.
6. Winer H., Ozer J., Shemer Y., Reichenstein I., Eilam-Frenkel B., Benharroch D., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. Nuphar lutea Extracts Exhibit Anti-Viral Activity against the Measles Virus // *Molecules*, 2020, vol. 25, i. 7, p. 1657.
 7. El-On J., Ozer L., Gopas J., Sneir R., Golan-Goldhirsh A. Nuphar lutea: In vitro anti-leishmanial activity against *Leishmania major* promastigotes and amastigotes // *Phytomedicine*, 2009, vol. 16, i. 8, pp. 788–792.
 8. Ozer L., El-On J., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. *Leishmania major*: Anti-leishmanial activity of Nuphar lutea extract mediated by the activation of transcription factor NF- κ B // *Experimental Parasitology*, 2010, vol. 126, i. 4, pp. 510–516.
 9. Jain S., Jacob M., Walker L., Tekwan B. Screening North American plant extracts in vitro against *Trypanosoma brucei* for discovery of new anti-trypanosomal drug leads // *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2016, vol. 16, p. 131.
 10. Levy D.H., Chapple I.L. C., Shapira L., Golan-Goldhirsh A., Gopas J., Polak D. Nupharidine enhances *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* clearance by priming neutrophils and augmenting their effector functions // *J. of Clinical Periodontology*, 2019, vol. 46, i. 1, pp. 62–71.
 11. Влияние алкалоида нуфлеина из кубышки желтой на жизнеспособность клеток рака шейки матки человека и фибробластов кожи крыс / Т.А. Федотчева, О.П. Шейченко, В.В. Ануфриева, В.И. Шейченко / Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ВИЛАР. – 2016. – С. 628–630.
 12. Федотчева Т.А., Шейченко О.П., Широких К.Е. Цитостатическая активность алкалоида кубышки желтой нуфлеина // Российский биотерапевтический журнал. 2016. – Т. 15(1). – С. 110.
 13. Chaturvedi M.M., Sung B., Yadav V.R., Kannappan R., Aggarwal B.B. NF- κ B addiction and its role in cancer: 'one size does not fit all' // *Oncogene*, 2011, vol. 30, i. 14, pp. 1615–1630.
 14. Ozer J., Fishman D., Eilam B., Golan-Goldhirsh A., Gopas J. Anti-metastatic effect of semi-purified Nuphar lutea leaf extracts // *Cancer*, 2017, vol. 8, i. 8, pp. 1433–1440.
 15. Staal J., Beyaert R. Inflammation and NF- κ B Signaling in Prostate Cancer: Mechanisms and Clinical Implications // *Cells*, 2018, vol. 7, i. 9, p. 122.
 16. Modzelewska A., Sur S., Kumar S.K., Khan S.R. Sesquiterpenes: natural products that decrease cancer growth // *Current Medical Chemistry – Anti-cancer Agents*, 2005, vol. 5, i. 5, pp. 477–499.
 17. Dalvie E.D., Gopas J., Golan-Goldhirsh A., Osheroff N. 6,6'-Dihydroxythiobinupharidine as a poison of human type II topoisomerases // *Bioorganic and Medical Chemistry Letters*, 2019, vol. 29, i. 15, pp. 1881–1885.
 18. Mallick D.J., Korotkov A., Li H., Wu J., Eastman A. Nuphar alkaloids induce very rapid apoptosis through a novel caspase-dependent but BAX/BAK-independent pathway // *Cell Biology and Toxicology*, 2019, vol. 35, i. 5, pp. 435–443.
 19. Muduli S., Golan-Goldhirsh A., Gopas J., Danilenko M. Cytotoxicity of Thioalkaloid-Enriched Nuphar lutea Extract and Purified 6,6'-Dihydroxythiobinupharidine in Acute Myeloid Leukemia Cells: The Role of Oxidative Stress and Intracellular Calcium // *Pharmaceuticals*, 2022, vol. 15, i. 4, p. 410.
 20. Waidha K., Anto N.P., Jayaram D.R., Golan-Goldhirsh A., Rajendran S., Livneh E., Gopas J. 6,6'-Dihydroxythiobinupharidine (DTBN) Purified from Nuphar lutea Leaves Is an Inhibitor of Protein Kinase C Catalytic Activity // *Molecules*, 2021, vol. 26, i. 9, pp. 2785.

21. Waidha K., Zurgil U., Ben-Zeev E., Gopas J., Rajendran S., Golan-Goldhirsh A. Inhibition of Cysteine Proteases by 6,6' – Dihydroxythiobinupharidine (DTBN) from *Nuphar lutea* // *Molecules*, 2021, vol. 26, i. 16, pp. 4743.
22. Matsuda H., Nakamura S., Nakashima S., Fukaya M., Yoshikawa M. Biofunctional Effects of Thiohemiaminal-Type Dimeric Sesquiterpene Alkaloids from *Nuphar* Plants // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2019, vol. 67, i. 7, pp. 666–674.
23. Fukaya M., Nakamura S., Hegazy M.E.F., Yoshikazu Sugimoto Y., Hayashi N., Nakashima S., Yoshikawa M., Efferth T., Matsud H. Cytotoxicity of sesquiterpene alkaloids from *Nuphar* plants toward sensitive and drug-resistant cell lines // *Food and Functions*, 2018, vol. 9, i. 12, pp. 6279–6286.
-
-

PROSPECTS FOR THE USE OF NUPHAR LUTEA LEAVES IN MEDICINE AND PHARMACY

D.V. Drik, N.V. Nesterova

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

*The analysis of scientific literature and relevant normative documentation has shown a tendency to explore biologically active substances of *Nuphar lutea* leaves and to study the effect of the extracted alkaloid fraction on molecular and cellular structures involved in the development of diseases; that allows us to consider this type of raw material as a promising source of new medications.*

Keywords: *Nuphar lutea*, semi-purified *Nuphar lutea* leaf extract, NFκB, dimeric sesquiterpene thioalkaloids, 6,6' – hydroxythiobinupharidine

УДК 547.92

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.46.57.011>

СТЕРИНЫ: ИСТОЧНИКИ, СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПУТИ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

В.В. Федотова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, bergenya@yandex.ru

Растительные стерины представляют собой структурные компоненты клеточных мембран и участвуют в регуляции процессов онтогенеза и стрессовой устойчивости растений. Они могут находиться в свободном состоянии, образовывать эфиры с высшими жирными кислотами, гликозиды или углеводные производные. Их источником может быть значительное количество представителей растительного мира. Морские обитатели интересны в качестве сырья для поиска новых биологически активных соединений стериновой структуры. В настоящее время экономически наиболее выгодно выделять β -ситостерин из сульфатного мыла от варки древесины с целью обогащения им продуктов питания. Такие продукты перспективны для уменьшения уровня холестерина и профилактики ишемической болезни сердца среди населения России.

Ключевые слова: стерины, β -ситостерин, стигмастерин, кампестерин, холестерин, гиперхолестеринемия, ишемическая болезнь сердца

Стерины являются основными липидными компонентами клеточной мембраны растений и характеризуются значительным разнообразием. Доминирующие фитостерины – β -ситостерин, стигмастерин и кампестерин. Они различаются присутствием метильной

или этильной группы в боковой цепи при C_{24} . Так, β -ситостерин и стигмастерин относятся к 24-этилстеринам, кампестерин является 24-метилстерином. Стерины в растениях могут быть связаны с высшими жирными кислотами (сложные эфиры), находиться в виде гликозидов (стерилгликозиды, ацилстерилгликозиды) или же в свободном состоянии. Разнообразие присутствующих стеринов в растениях позволяет им адаптироваться к переменным условиям окружающей среды, они также участвуют в процессах онтогенеза [1].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили с использованием информационно-поисковых (PubMed, Google Scholar), библиотечных баз данных (eLibrary), а также результатов собственных исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Источники стеринов

Из корневищ скорняка крапивы двудомной выделен эргостерин и идентифицирован на основании данных УФ-, Н-ЯМР-спектроскопии и масс-спектроскопии. Существует разработанная ТСХ-методика качественного обнаружения стеринов в корневищах с корнями

крапивы двудомной. Методика количественного определения суммы стеринных соединений в этом сырье основана на прямой спектрофотометрии при длине волны 328 нм продукта взаимодействия стеринных соединений с концентрированной серной кислотой [2].

Содержание суммы стеринных соединений в корневищах с корнями крапивы двудомной в июне составляет $1,88 \pm 0,03\%$, затем содержание увеличивается до $3,42 \pm 0,05\%$ в сентябре. В женских особях крапивы двудомной содержание суммы стеринных соединений в корневищах с корнями $7,34 \pm 0,11\%$, в соцветиях $14,32 \pm 0,21\%$. В мужских экземплярах содержание составляет $3,91 \pm 0,06\%$ и $3,85 \pm 0,06\%$ соответственно [3].

Для количественного анализа стеринных также возможно использовать масс-спектрометрию с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ). В основе этой методики лежит ацилирование аналитов галогенангидридами галогензамещенных жирных кислот с одновременной кватернизацией азотистых оснований [4].

Из надземной части *Ajuga salicifolia* выделен стерин аюгасалицигенин и стеринные гликозиды аюгасалициозиды стигмастанового типа и исследовано их цитотоксическое действие [5].

В семенах хлопка стеринны содержатся в количестве 1,4%. В хлопковом масле стеринная фракция составляет 1,60%, в рапсовом масле – 0,70–0,80%, в кунжутном масле – 0,60%, в касторовом масле – 0,50%, в льняном масле – 0,40%, в соевом масле – 0,35%, в арахисовом масле – 0,25%. Доминирующим стеринным представителем является β -ситостерин (60–70% от суммы стеринных) [6].

В побегах сосны обыкновенной свободные стеринны содержатся в количестве 0,014–0,091%. Максимальное их накопление наблюдается в побегах в январе, минимальное – в летний период. В побегах и хвое сосны

обыкновенной стеринны находятся в виде эфиров с непредельными жирными кислотами – олеиновой, линоленовой, линолевой, и предельной – пальмитиновой кислотой. Наибольшее количество непредельных кислот обнаружено в ноябре – 65,4% [7].

Среди стеринных хвои ели сибирской преобладает стигмастерин в количестве 57,3 мкг/г сухого веса, в то время как доминирующим стеринным хвои ели сибирской голубой является β -ситостерин (61,9 мкг/г сухого веса). Хвоя ели сибирской голубой с зеленой хвоей характеризуется преобладанием кампестерина, его содержится 47,9 мкг/г сухого веса. В хвое ели голубой кампестерина 68,2 мкг/г сухого веса. В ели обыкновенной 40–45 лет кампестерина в 5 раз больше, нежели в хвое молодых деревьев [8].

Содержание свободных стеринных в побегах березы бородавчатой изменяется в интервалах 0,019–0,048%. Количество связанных стеринных также меняется в течение годового цикла и составляет 0,008–0,018% [9,10].

Из надземной части зверобоя продырявленного методом колонной хроматографии выделены два стерина и идентифицированы как эргостерин и β -ситостерин с использованием УФ-, ЯМР- и масс-спектров [11].

В мучке, которая остается после переработки овса, содержатся стеринны в количестве 0,68% от суммы всех фракций липидов, преобладающим является β -ситостерин (74,96%), стигмастерина содержится 11%, доля кампестерина составляет 7,86% [12].

В эфирных маслах цитрусовых – бергамота, лимона, мандарина и апельсина – с использованием газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором и методом масс-спектрометрии с газовой хроматографией был идентифицирован β -ситостерин как доминирующее соединение в эфирных маслах холодного отжима, со средним содержанием 650 мг кг⁻¹ в маслах бергамота и апельсина. Кампестерол и брассикастерол встречались

в значительно меньшем количестве во всех образцах эфирных масел цитрусовых [13].

Из листьев *Datura metel* L. были выделены 5 стеринов – датурметезидов – эргостанового типа C_{28} и установлена их противовоспалительная активность [14].

Также стеринами богаты морские объекты. Фракция стеринов зеленой водоросли *Caulerpa lentillifera* состоит из C_{27} - C_{29} стероидных спиртов, имеющих $\Delta 5$ -ненасыщенность в стероидном ядре. Преобладающим стеринным компонентом (79,9%) является клионастерин [15].

Стерины возможно выделять из лабораторной культуры токсичной диатомовой водоросли *Pseudo-nitzschia pungens* [16] и из бурой водоросли *Sargassum parvivesiculosum*. Из этанольного экстракта бурой водоросли *Sargassum parvivesiculosum* выделены 3 стерина [17].

Наиболее распространенным стеринном бурых водорослей является фукостерин, который содержится только в мембранах водорослей и отсутствует у высших растений. Установлено, что *Fucus vesiculosus* накапливает наибольшее количество фукостерина, полифенолов и экстрактивных веществ в сравнении с другими представителями баренцевоморской флоры, таких как *F. serratus*, *F. distichus* и *Ascophyllum nodosum* [18].

Токсинсодержащие морские беспозвоночные, в частности губки (тип Porifera) и голотурии (тип Echinodermata, класс Holothurioidae), в отличие от других животных часто содержат необычные стерины вместо холестерина, которые отличаются положением двойной связи в стероидном ядре или наличием высокоалкилированных боковых цепей. Они могут рассматриваться как источники новых биологически активных соединений стеринной структуры [19].

Из экстрактов дальневосточной морской губки *Aplysinopsis* sp. выделена стеринная фракция [20].

В морских губках классов Demospongiae и Calcareia идентифицировано 73 стерина [21].

Стерины обнаружены в видах мягкого коралла *Lobophytum* Индийского океана [22].

Из морской звезды *Ceratonardoa semiregularis* получены стерины и исследована их цитотоксическая активность [23].

Выделение стеринов

Ситостерин возможно получать из сульфатного мыла от варки древесины сосны. Концентрат получают из раствора сульфатного мыла в воде и этилацетате экстракцией этилацетатом, упаривают, растворяют в смеси этилового спирта и бензина, охлаждают, промывают водой, смесь разделяют, органический слой, очищенный от сульфатного мыла, упаривают и после обработки низкомолекулярным спиртом выделяют ситостерин кристаллизацией [24].

Существует способ получения ситостерина из лиственной древесины, которая в отличие от сосновой содержит еще бетулин и α -ситостерин. Он заключается в переработке сульфатного мыла или омыленного таллового пека с последующим выделением нейтральных веществ методом экстракции органическим растворителем в присутствии низкомолекулярного спирта и воды, дальнейшего разделения экстракта и рафината, отделения мыл и бетулина с получением концентрата нейтральных веществ, растворение концентрата в органическом растворителе и дальнейшее выделение ситостерина методом кристаллизации. Концентрат растворяется в насыщенном водой метилацетате при соотношении 1:5–7 (температура 4–10°C), перекристаллизация ситостерина происходит из 85%-ного водного раствора изопропилового спирта (температура 30–35°C), после регенерации растворителя стерин объединяют с концентратом для проведения повторной кристаллизации. В итоге выход ситостерина 25–30% от его содержания в сырье.

На долю β -ситостерина приходится не менее 95% [25].

Также разработаны модифицированные варианты, в которых проводится однократная экстракция смесью «мыло : вода : спирт : бензин» в соотношении 1:(0,2–0,5):(0,3–0,5):(2–5) при частоте вращения смесительной лопасти 200–2000 об/мин.

Возможно осуществлять экстракцию без разбавления мыла водой, частота вращения смесительной лопасти при этом составляет 1000–2000 об/мин [26].

Разработан способ экстракции и очистки природных токоферолов и стерина с высоким выходом, основанный на их этерификации триметилпропаном при более 120°C в присутствии $H_4P_2O_7$ в среде метанола с последующей фильтрацией при –30°C и молекулярной перегонкой [27].

При изучении отходов масложиркомбината в соапстоках соевого, подсолнечного и рапсового масел установлено наличие доминирующих фитостерина: β -ситостерина, кампестерина, стигмастерина и брассикастерина. Их суммарное содержание варьирует от 44,3 до 65,2% от неомыляемой фракции; от соапстоков – от 1,3 до 2,2% в пересчете на абсолютно сухой вес соапстока. Содержание суммы стерина в воске подсолнечного масла составляет 0,3% в пересчете на абсолютно сухой воск, в том числе β -ситостерина – 0,22%; кампестерина и стигмастерина приблизительно по 0,04% [28].

Дистиллят дезодорированного соевого масла, а также других растительных масел может являться источником стерина.

Существует способ выделения из него стерина путем этерификации, катализируемой кислотой, и разделения дистилляцией и промывкой водой с последующей кристаллизацией фитостерина и их очисткой. Полученные таким образом фитостерины имеют высокую чистоту (95–99%) и выход (80–90%), содержат β -ситостерин, стигмастерин и кампестерин [29].

Медицинское применение стерина

Эффективность стерина в снижении уровня холестерина подтверждена многочисленными исследованиями [30–35].

По своей структуре они близки к холестерину и успешно конкурируют с ним за всасывание в желудочно-кишечном тракте, приводя к уменьшению его поступления в кровоток. Результатом является снижение риска развития ишемической болезни сердца. Стерины в виде немедикаментозной терапии путем введения в рацион питания обогащенных ими продуктов с этой целью успешно применяются в странах ЕС и США [36].

В России пока проводятся только единичные исследования [37,38]. В нашей стране гиполипидемическую терапию, как правило, назначают в случае наличия симптомов ишемической болезни сердца, используя для этого статины. Медикаментозную терапию повышенного уровня холестерина без развившейся клинической картины практически не проводят, да и пациенты недостаточно мотивированы на лечение при отсутствии проявления заболевания [39]. Поэтому перспективным направлением становятся продукты, обогащенные стеринами и их этерифицированными формами – станолами.

Так, было проведено рандомизированное плацебо-контролируемое двойное слепое исследование на 69 российских пациентах обоего пола в возрасте 44–70 лет. Первая группа ежедневно употребляла йогурт «Данакор», содержащий 1,6 г фитостерина, вторая группа – спред «Бенеколь» с 2,0 г фитостанолов, третья группа была контрольной. После трех недель лечения в первой группе уровень общего холестерина снизился на 10%, уровень холестерина липопротеинов низкой плотности – на 11,2%. Показатели второй группы за четыре недели снизились на 8,6% и 7,6% соответственно, что свидетельствует о корректирующем действии на липопротеины, которое сходно с зарубежными исследованиями [40].

Также была оценена эффективность использования станолов у 40 пациентов с нарушениями липидного обмена и гипертонией 1-й степени без клинических проявлений атеросклероза. Изначально уровень общего холестерина составлял $>5,0$ ммоль/л и холестерина липопротеинов низкой плотности $>3,0$ ммоль/л. 20 пациентов первой группы в течение 3 месяцев принимали 2 таблетки со станоллами в сутки и придерживались правил здорового питания. 20 пациентов контрольной группы в течение этого времени также питались правильно. Во время эксперимента применялась антигипертензивная терапия. Результат группы лечения показал достоверное снижение общего холестерина с $5,8 \pm 0,32$ ммоль/л до $5,3 \pm 0,32$ ммоль/л и холестерина липопротеинов низкой плотности с $3,6 \pm 0,26$ ммоль/л до $3,3 \pm 0,25$ ммоль/л, в то время как в контрольной группе изменений почти не наблюдалось [41].

Стерины не только оказывают действие на уровень холестерина. Имеются данные о противоопухолевых эффектах фитостеринов в отношении рака молочной железы, простаты, легких, печени, желудка и яичников. Результаты получены в экспериментах *in vitro* и на животных [42].

В исследовании [43] показано, что растительные стерины и станолы могут сдвигать баланс Т-хелперов Th1/Th2 в сторону иммунного ответа Th1-типа, что может быть полезным при Th2-доминантных состояниях, таких как астма и аллергия.

ВЫВОДЫ

Несмотря на значительный уровень исследованности стеринов, наличие ассортимента их источников и разработанные методики выделения, в настоящее время в нашей стране не налажено их производство с целью введения в медицинскую практику. В Реестре продукции,

прошедшей государственную регистрацию, имеются сведения об эфирах растительных стеринов немецкого происхождения и сложных эфирах станолола производства Финляндии [44]. Необходимо проводить работу с целью получения отечественных стеринов для снижения уровня холестерина и уменьшения риска развития ишемической болезни сердца.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Валитова Ю.Н., Сулкарнаева А.Г., Минибаева Ф.В. Растительные стерины: многообразие, биосинтез, физиологические функции (обзор) // *Биохимия*. 2016. Т. 81. №8. С. 1050–1068.
2. Балагозян Э.А., Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Определение стеринов в корневищах с корнями крапивы двудомной // *Фармация*. 2016. Т. 65. №2. С. 18–22.
3. Балагозян Э.А., Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Содержание стеринов в сырье крапивы двудомной // *Химия растительного сырья*. 2016. №2. С. 67–71.
4. Жиляев Д.И., Половков Н.Ю., Борисов Р.С., Заикин В.Г. Новые подходы к экспрессному профилированию стеринов методом масс-спектрометрии МАЛДИ В книге: XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Тезисы докладов в 5 томах. Уральское отделение Российской академии наук. 2016. С. 265.
5. Akbay P., Calis I., Heilmann J., Sticher O. New stigmastane sterols from *Ajuga salicifolia* // *J. Natur. Prod.* 2003. 66. №4. P. 461–465.
6. 06.08-19Б2.549 Капиллярная электрохроматография стеринов и родственных стериновых эфиров, выделенных из растительных масел. РЖ 19Б-2. Физическая химия (Кристаллохимия. Химия твердого тела. Газы. Жидкости. Аморфные тела. Поверхностные явления. Химия коллоидов). 2006. №8.

7. Девятловская А.Н., Журавлева Л.Н., Рубчевская Л.П., Девятловский Д.Н. Стерины в анатомических частях древесной зелени сосны обыкновенной // Вестник КрасГАУ. 2009. №1(28). С. 75–79.
8. Семенова Н.В., Шмаков В.Н., Дударева Л.В. Особенности состава и содержания стероидов в тканях хвои и культуре *in vitro* некоторых видов ели в условиях Южного Предбайкалья. В сборнике: Проблемы изучения и сохранения растительного мира Евразии. Материалы II Всероссийской научной конференции с участием иностранных ученых, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Леонида Владимировича Бардунова (1932–2008 гг.). Ответственные редакторы: А.В. Верховзина, Д.А. Кривенко. 2017. С. 203–205.
9. Девятловская А.Н., Журавлева Л.Н. Динамика содержания стероидов в анатомических частях березы бородавчатой // Вестник КрасГАУ. 2010. №6(45). С. 89–93.
10. Девятловская А.Н., Журавлева Л.Н. Содержание стероидов в тканях березы повислой и тополя дрожащего // Вестник КрасГАУ. 2013. №10(85). С. 139–144.
11. Правдивцева О.Е., Куркин В.А. Стерины надземной части зверобоя продырявленного // Химия растительного сырья. 2011. №4. С. 333–334.
12. Куликов Д.А. Применение вторичных сырьевых ресурсов крупяного производства для обогащения продуктов питания биологически активными веществами // Технические науки – от теории к практике. 2014. №33. С. 192–496.
13. Siano F., Cautela D. Assessment of free plant sterols in cold pressed Citrus essential oils // Nat. Prod. Res. 2020 Jan 30: 1–6. DOI: 10.1080/14786419.2020.1719486
14. Tan J.Y., Liu Y., Cheng Y.G., Sun Y.P., Liu Y., Huang J., Guo S., Liu G.Z., Kuang H.X., Yang B.Y. Daturmetesides A-E, five new ergostane-type C28 sterols from the leaves of *Datura metel* L. // Steroids. 2020 Jan 23; 156. DOI: 10.1016/j.steroids.2020.108583.
15. Шевченко Н.М., Бурцева Ю.В., Звягинцева Т.Н., Макарьева Т.Н., Сергеева О.С., Захаренко А.М., Исаков В.В. Полисахариды и стероиды зеленых водорослей *Caulerpa lentillifera* и *C. sertularioides* // Химия природных соединений. 2009. №1. С. 5–8.
16. Стоник И.В., Капустина И.И., Айздайчер Н.А., Светашев В.И. Стерины и жирные кислоты, выделенные из лабораторной культуры токсичной диатомовой водоросли *Pseudo-nitzschia pungens* // Химия природных соединений. 2016. №2. С. 259–260.
17. Qi S.H., Zhang S., Huang J.S., Xiao Z.H., Wu J., Long L.J. Glycerol derivatives and sterols from *Sargassum parvivesiculosum* // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 2004 Aug; 52(8): 986–988. DOI: 10.1248/cpb.52.986
18. Ткач А.В., Облучинская Е.Д. Стерины и полифенолы фукоидов мурманского побережья Баренцева моря // Вестник МГТУ. 2017. Т. 20, №2. С. 326–335. DOI: 10.21443/1560-9278-2017-20-2-326-335
19. Капустина И.И., Табакмахер К.М., Макарьева Т.Н. Стерины токсин-содержащей дальневосточной губки *Monanchora pulchra* // Химия природных соединений. 2011. №6. С. 891–892.
20. Гузий А.Г., Санталова Е.А. 8-оксоаденин и стероиды из дальневосточной губки *Aplysinopsis* sp. Материалы научной конференции студентов и аспирантов ДВГУ. – Владивосток, 2001. С. 161–162.
21. 05.12-19E.63Д Структурное изучение стероидов и некоторых сопутствующих токсинов морских губок. РЖ 19E. Природные органические соединения и их синтетические аналоги. 2005. №12.
22. Muralidhar P., Kumar M.M., Krishna N., Rao C.B., Rao D.V. New sphingolipids and a sterol from a *Lobophytum* species of the Indian ocean //

- Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 2005 Feb; 53(2): 168–71. DOI: 10.1248/cpb.53.168
23. Wang W., Jang H., Hong J., Lee C.O., Im K.S., Bae S.J., Jung J.H. Additional cytotoxic sterols and saponins from the starfish *Certostrodia semiregularis* // *J. Nat. Prod.* 2004 Oct; 67(10): 1654–1660. DOI: 10.1021/np049869b
24. Патент №RU 2 139 293 C1. Способ получения ситостерина. А.Н. Трофимов. БИ. 1990. №28.
25. Патент №2139293. Способ получения ситостерина. А.Н. Трофимов, Чупрова В.А., Рябова Е.Н. БИ. 1999. №28.
26. Патент №RU 2645144. Способ получения фитостерина (варианты). Кряжев А.М. Заявка №2017105701 от 20.02.2017.
27. Patent №00940429.4 Vitae-Caps S.A., Eloy Muro Andres. Method for extracting and purifying natural tocopherols and sterols by esterification with trimethyl propane. 09.06.2004.
28. Луцкий В.И., Молокова Д.В. Фитостерины из отходов масложиркомбината // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 2012, №2(3). С. 42–45.
29. Patent №US 7,632,530 B2 Process for the preparation of high purity phytosterols. Chami Arumughan, Das Retna Sobankumar, Andikkannu Sudareshan, Sreeja Sadasivan Nair, Kannan Yohesh, Leelavathy Rajam. 2009.
30. Jones P.J. H., Shamloo M., MacKay D. S., Rideout T.C., Myrie S.B., Plat J., Roullet J.B., Baer D.J., Calkins K.L., Davis H.R., Barton Duell P., Ginsberg H., Gylling H., Jenkins D., Lütjohann D., Moghadasian M., Moreau R.A., Mymin D., Ostlund R.E. Jr, Ras R.T., Ochoa Reparaz J., Trautwein E.A., Turley S., Vanmierlo T., Weingärtner O. Progress and perspectives in plant sterol and plant stanol research // *Nutr. Rev.* 2018 Oct 1; 76(10): 725–746. DOI: 10.1093/nutrit/nuy032
31. Demonty I., Ras R.T., van der Knaap H.C. Continuous dose-response relationship of the LDL-cholesterol-lowering effect of phytosterol intake // *J. Nutr.* 2009; 139: 271–284.
32. Sarkkinen E., Lyyra M., Nieminen S., Kuusisto P., Wester I. Cereal-Based Snack Bar with Added Plant Stanol Ester (Benecol®) Consumed between Meals Lowers Serum Total and LDL Cholesterol Effectively in Mildly to Moderately Hypercholesterolemic Subjects // *Cholesterol.* 2018 May 2. DOI: 10.1155/2018/1463628
33. Blom W.A. M., Koppenol W.P., Hiemstra H., Stojakovic T., Scharnagl H., Trautwein E.A. A low-fat spread with added plant sterols and fish omega-3 fatty acids lowers serum triglyceride and LDL-cholesterol concentrations in individuals with modest hypercholesterolaemia and hypertriglyceridaemia // *Eur. J. Nutr.* 2019 Jun; 58(4): 1615–1624. DOI: 10.1007/s00394-018-1706-1
34. Cheung C.L., Ho D.K., Sing C.W., Tsoi M.F., Cheng V.K., Lee G.K., Ho Y.N., Cheung B.M. Randomized controlled trial of the effect of phytosterols-enriched low-fat milk on lipid profile in Chinese // *Sci. Rep.* 2017 Jan 24; 7: 41084. DOI: 10.1038/srep41084
35. Chau Y.P., Cheng Y.C., Sing C.W., Tsoi M.F., Cheng V.K., Lee G.K., Cheung C.L., Cheung B.M. Y. The lipid-lowering effect of once-daily soya drink fortified with phytosterols in normocholesterolaemic Chinese: A double-blind randomized controlled trial // *Eur. J. Nutr.* 2019 Oct 23. DOI: 10.1007/s00394-019-02119-w
36. Jew S., Antoine J., Bourlioux P., Milner J., Tapscott L.C., Yang Y. & Jones P.J. H. 2015. Nutrient essentiality revisited // *Journal of Functional foods.* 14. 20: 3–209.
37. Оганов Р.Г., Перова Н.В., Марцевич С.Ю. Клиническое исследование «функционального» кисломолочного продукта питания, обогащенного растительными стеринами // *Consilium Medicum.* 2008. Т. 10. №5. С. 150–156.
38. Перова Н.В., Хучиева М.А. Растительные стеринны и станолю в профилактике болезни системы кровообращения // *Эффективная фармакоотерапия.* 2011. №12. С. 64–69.

39. Хучиева М.А., Перова Н.В., Ахмеджанов Н.М. Растительные стеролы и станоламы как пищевые факторы, снижающие гиперхолестеринемия путем ингибирования всасывания холестерина в кишечнике // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011; 10(6). С. 124–132.
40. Хучиева М.А., Перова Н.В. Рандомизированные исследования «функциональных» продуктов, обогащенных растительными стеринами и станолами: эффективность в коррекции дислипидемий // Атеросклероз. 2014. Т. 10. №2. С. 3–14.
41. Сафарян А.С., Камышова Т.В., Небиеридзе Д.В., Саргсян В.Д. Роль растительных станолов в первичной профилактике гиперхолестеринемии у пациентов с артериальной гипертензией // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019. Т. 18. №3. С. 5–10.
42. Ramprasath V.R., Awad A.B. Role of Phytosterols in Cancer Prevention and Treatment // Journal of AOAC International. 2015. 98(3): 735–738. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGERamprasath>
43. Brüll F., De Smet E., Mensink R.P., Vreugdenhil A., Kerksiek A., Lütjohann D., Wesseling G., Plat J. Dietary plant stanol ester consumption improves immune function in asthma patients: results of a randomized, double-blind clinical trial // Am.J. Clin. Nutr. 2016 Feb; 103(2): 444–453. DOI: 10.3945/ajcn.115.117531
44. Реестр продукции, прошедшей государственную регистрацию [Электронный ресурс]. – 2022. – Режим доступа: <http://fp.crc.ru/gosregfr/>

STEROLS: SOURCES, METHODS OF PRODUCTION AND WAYS OF MEDICAL USE

V.V. Fedotova

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a Branch of Volgograd State Medical University, Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russia

Plant sterols are structural components of cell membranes and are involved in the regulation of ontogeny and stress resistance in plants. They can be in a free state, form esters with higher fatty acids, glycosides or carbohydrate derivatives. Their source can be a significant number of representatives of the plant world. Marine life is interesting as a raw material for the search for new biologically active compounds of the sterol structure. At present, it is economically most profitable to isolate β -sitosterol from sulfate soap from wood pulping in order to enrich food products with it. Such products are promising for lowering cholesterol levels and preventing coronary heart disease among the Russian population.

Keywords: sterols, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cholesterol, hypercholesterolemia, coronary heart disease

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 >