

Зміст

До 80-річчя від дня народження Георгієвського Віктора Петровича	5
<u>Міжнародні конгреси, семінари, виставки</u>	
<i>Воловик Н. В.</i>	
Сучасні вимоги до валідації очищення: тренінг компанії «Honeyman Group Limited» (Велика Британія)	10
<u>Фітохімічні дослідження</u>	
<i>Попова Я. В., Мазулін О. В., Буряк В. П., Мазулін Г. В., Остапенко А. О.</i>	
Трава <i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop. як перспективне джерело сучасних фітопрепаратів	13
<u>Мікробіологічні дослідження</u>	
<i>Одинцова В. М., Панасенко О. І., Книш Є. Г.</i>	
Синтез, фізико-хімічні властивості, протимікробна та протигрибкова активність 2-[(5-(адамантан-1-іл)-4- <i>R</i> -4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]- <i>N</i> '- <i>R</i> ₁ -ацето-гідразидів	18
<u>Фармакологічні дослідження</u>	
<i>Пругло Є. С., Панасенко О. І., Книш Є. Г.</i>	
Анксиолітична активність <i>N</i> -похідних 4-аміно-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіонів та солей 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтової кислоти	24
<u>Будова і властивості</u>	
<i>Гречана О. В., Сербін А. Г., Буряк В. П.</i>	
Спектрофотометричний метод дослідження аценокумаролу	29
<u>Аналітичний огляд</u>	
<i>Георгієвський В. П., Зінченко О. А, Куліков А. Ю., Литвиненко В. І., Колісник О. В., Попова Н. В., Бобрицька Л. О.</i>	
До питання стандартизації лікарської рослинної сировини при створенні фітопрепаратів. Повідомлення 1. Оцінка квіток цмину піскового за вмістом біологічно активних сполук	34
<u>Фармако-економічні та маркетингові дослідження</u>	
<i>Ольховська А. Б.</i>	
Аналіз розбіжностей категорійного апарату «просування» та «маркетингові комунікації» лікарських засобів і його вдосконалення з урахуванням галузевої специфіки	57
<u>До відома авторів журналу «Фармаком»</u>	
Вимоги до публікацій	64

-
- Рецензенти: д. фарм. н., професор Загорій В. А.; д. б. н., професор Карасьова Т. Л.; д. х. н., старш. наук. співроб. Куліков А. Ю.; д. х. н., професор Литвиненко В. І.; д. б. н., професор Маслова Н. Ф.
 - Випуск підготували: Саматов Р. С., Боярська В. О., Лук'янова І. С., Лук'янова О. С., Вовк О. Г.
 - Рекомендовано до друку вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 3 від 13.06.2017.
 - Підписано до друку 28.06.17. Тираж 500 прим.

Содержание

К 80-летию со дня рождения Георгиевского Виктора Петровича 5

Международные конгрессы, семинары, выставки

Воловик Н. В.

Современные требования к валидации очистки: тренинг
компания «Honeyman Group Limited» (Великобритания) 10

Фитохимические исследования

Попова Я. В., Мазулин А. В., Буряк В. П., Мазулин Г. В., Остапенко А. А.

Трава *Cirsium arvense* (L.) Scop.
как перспективный источник современных фитопрепаратов 13

Микробиологические исследования

Одинцова В. Н., Панасено А. И., Кныш Е. Г.

Синтез, физико-химические свойства, противомикробная
и противогрибковая активность
2-[(5-(адамантан-1-ил)-4-*R*-4Н-1,2,4-триазол-3-ил)тио]-*N*'-*R*₁-ацетогидразидов 18

Фармакологические исследования

Пругло Е. С., Панасенко А. И., Кныш Е. Г.

Анксиолитическая активность *N*-производных
4-амино-5-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-тионов
и солей 2-(4-амино-5-метил-1,2,4-триазол-3-илтио)уксусной кислоты 24

Строение и свойства

Гречаная Е. В., Сербин А. Г., Буряк В. П.

Спектрофотометрический метод исследования аценокумарола 29

Аналитический обзор

Георгиевский В. П., Зинченко А. А., Куликов А. Ю.,

Литвиненко В. И., Колиснык А. В., Попова Н. В., Бобрицкая Л. А.

К вопросу о стандартизации лекарственного растительного сырья
при создании фитопрепаратов. Сообщение 1. Оценка цветков
бессмертника песчаного по содержанию биологически активных соединений 34

Фармако-экономические и маркетинговые исследования

Ольховская А. Б.

Анализ расхождений категорийного аппарата «продвижение»
и «маркетинговые коммуникации» лекарственных средств
и его совершенствование с учетом отраслевой специфики 57

К сведению авторов журнала «Фармаком»

Требования к публикациям 64

До 80-річчя від дня народження**Георгієвського Віктора Петровича,****члена-кореспондента Національної академії наук України,
заслуженого діяча науки і техніки України**

23 червня 2017 року виповнюється 80 років відомому вченому в галузі аналітичної хімії та фармацевтичного аналізу, стандартизації та контролю якості лікарських засобів Георгієвському Віктору Петровичу.

Віктор Петрович закінчив фармацевтичний факультет 1-го Московського медичного інституту у 1959 році і працював у Державному підприємстві «Державний науковий центр лікарських засобів» МОЗ України (ДП «ДНЦЛЗ» МОЗ України) з 1958 і до 2012 року. Пройшов шлях від лаборанта до завідувача відділу вивчення якості лікарських препаратів (1978 р.). У 1989 р. обраний директором ДП «ДНЦЛЗ» МОЗ та НАН України. Зараз проф. В. П. Георгієвський працює в Державному підприємстві «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». У 1964 році В. П. Георгієвський захистив кандидатську дисертацію, а у 1981 році — докторську. У 1983 р. йому присвоєне вчене звання — професор, а у 2003 р. обрано членом-кореспондентом НАН України.

Науково-практична діяльність В. П. Георгієвського багатогранна — це відомий учений, великий організатор науки і громадський діяч.

Віктор Петрович — засновник школи стандартизації і контролю якості лікарських засобів, найбільшої в Україні та країнах СНД.

В. П. Георгієвським також була сформована найбільша в Україні та СНД школа фарма-

цевтичного аналізу, що під його керівництвом працювала над вирішенням фундаментальних питань практично в усіх напрямках фармацевтичного аналізу.

Проведені глибокі дослідження в галузі фармацевтичного аналізу спрямовані на вивчення впливу неводних розчинників на силу кислот, лугів та їхніх солей з метою обґрунтування створення оптимальних умов кількісного кислотно-основного титрування. Розраховані показники констант титрування, що дозволило доповнити теорію впливу неводних розчинників Бренстеда — Ізмайлова на кислотні й основні властивості досліджуваних класів сполук та обрати оптимальні умови їх аналізу.

Ці дослідження мають значну наукову і практичну вагу, вони були покладені в основу загальних статей Державної Фармакопеї СРСР ІХ, Х та ХІ видань, а також першого видання Державної Фармакопеї України (2001 р.) та Доповнень І, ІІ, ІІІ, ІV.

Відомі дослідження В. П. Георгієвського в галузі хроматографії. Ним особисто вивчені хроматографічні рухливості флавоноїдів, кумаринів, антрахінонів, алкалоїдів і карденолідів у тонких шарах сорбентів та встановлено, що хроматографічна рухливість агліконів залежить від кількості, місця розташування та відносної кислотності оксигрупи, а глікозидів — від кількості й природи цукрових компонентів, що було покладено в основу вибору оптимальних умов проведення хроматографічного аналізу в тонкому шарі сорбенту.

Під керівництвом В. П. Георгієвського теоретично обґрунтована і сформульована оптимальна схема газохроматографічного кількісного аналізу лікарських засобів, що характеризується високою надійністю і низькою похибкою.

Проведені значні наукові дослідження в галузі оптимізації умов хроматографування у рідинній хроматографії з багатокомпонентними рухомими фазами. Одержані нові лінійні залежності у рідинній хроматографії з бінарними рухомими фазами; ці залежності запропоновано застосовувати для оптимізації умов розділення. Сформульовано поняття функціональної стійкості бінарних рухомих фаз, що має важливе значення для характеристики відтворюваності величин утримування. Особливо важливим є розвиток моделі єдиного адсорбційного цен-

тру та концепції багатокомпонентних рухомих фаз, що дозволяє створити єдиний елюотропний ряд багатокомпонентних рухомих фаз і кількісно охарактеризувати хроматографічну гетерогенність сорбентів.

Дані дослідження, виконані під керівництвом В. П. Георгієвського, дозволили ДНЦЛЗ зайняти провідне місце в Україні та СНД в галузі високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) лікарських засобів і широко застосовувати цей метод у фармацевтичному аналізі. Практично всі аналітичні нормативні документи (АНД) в Україні, що контролюють якість лікарських засобів методом ВЕРХ, розроблені в ДНЦЛЗ школою В. П. Георгієвського.

Проведені також дослідження з метрологічного забезпечення хроматографічного аналізу і питань використання у ньому стандартів, що дозволило обґрунтувати межі застосування хроматографії для контролю лікарських засобів.

Важливим науковим напрямком, який очолював В. П. Георгієвський, є багатокомпонентна спектрофотометрія лікарських засобів. Під його керівництвом виконані фундаментальні дослідження, у результаті яких розв'язані основні теоретичні питання багатокомпонентної спектрофотометрії й отримали розвиток модифікований і відносний методи найменших квадратів.

Під керівництвом В. П. Георгієвського розвивався такий цікавий напрямок, як використання апріорної інформації при контролі якості лікарських засобів; також були проведені значні дослідження в області флуоресцентного і люмінесцентного аналізу лікарських засобів.

Усі перелічені методи широко застосовуються для контролю якості лікарських засобів. Практично всі засновані на цих методах методики включені до АНД на лікарські засоби колишнього Радянського Союзу і тепер України.

В. П. Георгієвським та його учнями вперше у вітчизняному фармацевтичному аналізі сформульоване поняття «аналітичне забезпечення технологічних досліджень зі створення лікарського засобу», що вилилось у нову концепцію. У поєднанні з розробленими під керівництвом В. П. Георгієвського новими принципами стандартизації лікарських засобів це дозволило виконати програми з розвитку медичної, ветеринарної і мікробіологічної промисловості та поліпшенню забезпечення потреб населення і тваринництва лікарськими засобами і медичною технікою, а також скоротити терміни створення препаратів-генериків. Саме завдяки цій концепції у 1992-2006 рр. у ДП «ДНЦЛЗ» МОЗ України розроблено 178 препаратів-генериків. Крім за-

значеного вище, під керівництвом В. П. Георгієвського впроваджено 63 оригінальних препарати, що є конкурентоспроможними в Україні.

Одним із найважливіших напрямків наукової діяльності В. П. Георгієвського є контроль якості та стандартизація лікарських засобів. Перша в СРСР лабораторія стандартизації лікарських засобів була створена у 1972 році під його керівництвом.

Розроблена під керівництвом В. П. Георгієвського вітчизняна система стандартизації лікарських засобів, яка враховувала національні особливості України, дозволила істотно підвищити вимоги до якості вітчизняних препаратів. Свідченням цього є досить високий авторитет українських препаратів на фармацевтичному ринку СНД.

Після утворення незалежної України В. П. Георгієвський був призначений головою Фармакопейного комітету МОЗ України. Під його керівництвом у найкоротший термін був розроблений пакет нормативних документів, що регламентує практично всі аспекти вимог до контролю якості лікарських засобів.

Багатогранна наукова діяльність В. П. Георгієвського знайшла відображення у більше ніж 500 наукових публікаціях (зокрема, 120 охоронних документах, 12 монографіях) і 230 аналітичних нормативних документах на лікарські засоби, розроблених безпосередньо під його керівництвом. Цінну теоретичну і практичну значущість мають монографії «Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств» (2011 р.) та «Хроматографические методы в аналитическом обеспечении создания и контроля качества лекарственных средств в Украине» (2016 р.) під редакцією чл.-кор. НАН України В. П. Георгієвського. Під його науковим керівництвом захищені 12 докторських та 20 кандидатських дисертацій.

У Спеціалізованій вченій раді із захисту дисертацій при ДП «ДНЦЛЗ», яку він очолював, захищені більше 230 кандидатських і 70 докторських дисертацій.

Віктор Петрович Георгієвський був членом президії ДП «Державний фармакологічний центр» МОЗ України, членом правління Асоціації хроматографістів України, є головним редактором журналу «Фармаком», членом редколегії багатьох інших наукових журналів («Ліки», «Фармацевтичний журнал» та ін.).

У 1991 році В. П. Георгієвський одержав почесне звання «Заслужений діяч науки і техніки України».

За свої чималі заслуги Віктор Петрович нагороджений орденами України «За заслуги» II та III ступенів (2002 р. та 1997 р. відповідно), медалями та почесними грамотами. Цього року працю В. П. Георгієвського було відзначено медаллю «Трудова слава» II ступеня від міжнародної академії рейтингових технологій і соціології «Золота фортуна», грамотою Харківської обласної ради, почесною грамотою Харківської міської ради і нагородою «The name in science prize» by The Socrates Committee, Oxford, UK.

Георгієвський В. П. був визнаний кращим винахідником НАН України (1999 р.); лауреатом Всеукраїнського конкурсу «Ділова людина України» (2000 р., 2004 р.); кращим на-

уковцем Фармацевтичної асоціації України (2000 р.) та ін. У 2006 році В. П. Георгієвський був обраний депутатом Харківської міської ради V скликання.

Віктор Петрович Георгієвський відомий не тільки як видатний вчений і талановитий організатор, але і як людина різнобічних захоплень і здібностей. Він є одним з тих компетентних вчених, які мали і мають значний вплив на розвиток вітчизняної науки та виробництва лікарських засобів. Розвиток фармацевтичної промисловості в Україні тісно пов'язаний із реалізацією його наукових концепцій в галузі аналізу і стандартизації лікарських засобів.

Колективи Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» та Державного підприємства «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», редколегія журналу «Фармаком», численні учні і послідовники бажають ювіляру міцного здоров'я, щастя та творчих успіхів. Нехай надія і віра у свої сили надихає Вас, Вікторе Петровичу, на написання нових монографій та історії створення фармацевтичної промисловості України за участю ДП «ДНЦЛЗ» та ДП «Фармакопейний центр».

Let us introduce Viktor Georgievskiy

Dr. Victor Petrovich Georgievsky was born on June 23, 1937 in the city of Artyomovsk in the Donetsk region of the Ukraine. In 1959 he graduated from the 1st Moscow Medical Institute, with a specialization in Pharmaceutical Chemistry.

Since 1958, Dr. Georgievsky has worked at the State Scientific Center of Drugs. He began as a Laboratory Assistant, became a Research Assistant in 1960, and was promoted to Senior Staff Scientist in 1965. Continuing to advance, he was made Laboratory Chief six years later, and the Drug Quality Study Department Chief in 1978. In 1989 Dr. Georgievsky was elected a Center Director. Additionally, since 1992 he has been Chairman of the Pharmacopoeial Committee of the Ministry of Public Health of the Ukraine.

In 1964 Dr. Georgievsky defended his Ph.D. thesis, and in 1980, he defended a thesis for a Doctoral degree in Pharmaceutical Sciences. He has held the academic status of Professor since 1983, and the status of Academician of the Engineering Academy of the Ukraine since 1992. In addition, he has held the status of Academician of the International Engineering Academy since 1995.

Notably, Dr. Georgievsky is a founder of drug quality and standardization schools in the Ukraine and the CIS countries. With respect to his creative activities, several scientific achievements should be emphasized. These include the development of fundamental questions of pharmaceutical analysis, the development of questions of analytic guarantee of technological research on drug creation, the development of general drug creation conception, and Special Edition 5 Socrates Almanac drug standardization. Dr. Georgievsky began his scientific

activity while still a student, publishing in 1959 his first scientific work in Pharmaceutychny Journal. His studies were carried out under the guidance of N. A. Izmaylov, a Corresponding Member of the Ukrainian SSR Academy of Science who was devoted to the quantitative determination of barbiturates by titration in nonaqueous media. This work became for Dr. Georgievsky a focal point in the development of pharmaceutical analysis of fundamental questions; a prominent scientist, a founder of thin-layer chromatography method and creator of nonaqueous solutions theory, exerted an enormous influence over the young researcher, and nonaqueous titration and chromatography became the basic trends in the research he performed. Particularly extensive are Dr. Georgievsky's investigations in the field of chromatography.

At present, the State Pharmacopoeia of the Ukraine is being established under his guidance. The multifaceted creative work of Dr. Georgievsky is reflected in his 346 publications, 47 patents and 6 monographs, according to which more than 50 brand names of Pharmaceuticals are now manufactured at industrial plants in the Ukraine and CIS states. Clearly, Dr. Georgievsky is one of those scientists who have had, and continue to have a considerable influence on the development of pharmaceutical science and manufacturing in the Ukraine. The elevation of the pharmaceutical industry of the Ukraine now being observed is to a great extent connected with the realization of his scientific conceptions. On a personal note, Dr. Georgievsky is married and has a son and a granddaughter. His avocational pursuits are fishing, hunting, traveling and painting.

«The Europe 500. Leaders for Now Century»

**Вельмишановний
Вікторе Петровичу!**

Президія Національної академії наук України сердечно вітає Вас з 80-річчям від дня народження.

Ваш особистий внесок у розвиток хімічних наук добре відомий науковій спільноті та заслугує на щирі слова вдячності.

Своїми науковими працями Ви збагатили дослідження в галузі аналітичної хімії. Основними напрямками Вашої наукової діяльності є розроблення фундаментальних питань хіміко-фармацевтичного аналізу біологічно активних речовин і методів аналізу сировини, напівпродуктів, субстанцій і лікарських форм.

Завдяки Вашим зусиллям сформовано школу фармацевтичного аналізу, стандартизації та контролю якості лікарських засобів, підготовлено та видано першу Державну Фармакопею України. Під Вашим керівництвом розроблено науково-технічну документацію та впроваджено у виробництво понад 130 препаратів-генериків.

Ви є автором та співавтором близько 80 лікарських засобів. Це, зокрема, гутаргін, рутес, кратал, диклофін, фламін, алантон, ліквіритон, інгалітп, феростат, флаванабол, фладекс, фітоліт, тіотриазолін, титріол та інші.

Нахвиленою працею і авторитетом Ви сприяєте зміцненню позицій вітчизняної науки. Чимало сил віддаєте вихованню наукової зміни, приділяючи значну увагу підготовці висококваліфікованих спеціалістів.

Тіодним визнанням заслуг перед наукою стало обрання Вас членом-кореспондентом Національної академії наук України.

Принаманні Вам особисті якості – наполегливість, ерудиція і заговорене відчуття нового, чуйність і доброзичливість – вишукують заслужену повагу колег та друзів.


У цей урочистий день зичимо Вам, дорогий Вікторе Петровичу, доброго здоров'я, щастя, нових успіхів на ниві наукової діяльності. Нехай кожен день буде для Вас радісним, наповненим творчим натхненням та вірою в майбутнє. Бажаємо Вам світлих сонячних днів, весни у серці, тепла в душі, впевненості та успіхів у праці. Нехай оптимізмом наповнюються будні, турботою зігрівають близькі Ваші люди.

Президент
Національної академії наук України
академік НАН України



Б.С. ПАТОН

Віце-президент
Національної академії наук України
академік НАН України



В.Г. КОШЕЧКО

Головний учений секретар
Національної академії наук України
академік НАН України



В.Л. БОГДАНОВ

Академік-секретар
Відділення хімії НАН України
академік НАН України



М.Т. КАРТЕЛЬ

Міжнародні конгреси, семінари, виставки

Воловик Н. В.

Сучасні вимоги до валідації очищення: тренінг компанії «Honeyman Group Limited» (Велика Британія)

Актуальність

Валідація очищення обладнання є необхідною умовою отримання фармацевтичними підприємствами ліцензії на виробництво і випуск лікарських засобів. У зв'язку з цим фармацевтичні підприємства проходять сувору перевірку з боку інспекторів GMP на відповідність вимогам до належної чистоти фармацевтичного обладнання, що має забезпечити запобігання перехресної контамінації лікарських засобів і мінімізувати ризики для людини. ДП «Фармакопейний центр» надає послуги з валідації очищення, що обумовлює інтерес як вітчизняних, так і зарубіжних фармацевтичних підприємств до організації з метою вирішення питань стосовно даного напрямку.

Кількість рекомендацій щодо валідації очищення значно зросла з 2000 р. Відповідно посилилася увага регуляторів у цій галузі. У січні 2015 р. вийшов Додаток 15 до Керівних принципів ЄС щодо GMP для лікарських засобів, що призначені для людей та для застосування у ветеринарії (ANNEX 15 of the EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use), який принципово відрізняється від попередніх версій, насамперед з точки зору валідації очищення. Так, у новій версії Додатку 15 написано, що критерії прийнятності для залишків продуктів на поверхнях обладнання (межі) мають бути встановлені на підставі токсикологічної оцінки. Це викликало низку питань як з боку фармацевтичних підприємств, так і з боку інспекторів GMP. Річ у тім, що більшість фармацевтичних підприємств України провели або знаходяться у процесі проведення валідації очищення обладнання, критерії прийнятності до чистоти якого були встановлені, згідно з попередніми документами, на основі клінічних даних (1/1000 від мінімальної терапевтичної дози).

Тому, перш за все, постали такі питання:

1. Чи мають критерії до чистоти фармацевтичного обладнання обов'язково встановлюватися лише на основі токсикологічних даних або можна застосовувати підхід, який спирається на клінічні дані?
2. Чи потрібно фармацевтичним підприємствам, які вже провели валідацію очищення, про-

водити позапланову ре-валідацію у зв'язку з появою і відповідно до нових вимог?

Для того, щоб виконувати роботи з валідації очищення на високому рівні і зберігати статус провідної організації в галузі стандартизації, співробітники ДП «Фармакопейний центр», які проводять роботи за відповідним напрямком, мають володіти сучасними знаннями й мати належну кваліфікацію, що має бути підтверджено відповідними сертифікатами.

Вибір тренінгу

На даний час багато фірм пропонують семінари з валідації очищення, на яких розглядаються лише теоретичні аспекти. Участь у таких семінарах, безумовно, є корисною, але отримані знання часто є недостатніми для їх впевненого застосування на практиці. Програма тренінгу компанії «Honeyman Limited Group» на тему «Сучасні вимоги до валідації

Рисунок 1



Воловик Н. В. відбирає пробу для аналізу залишків продуктів з поверхні технологічного обладнання

Рисунок 2



Учасники тренінгу із тренером Марі Вестгарт

очищення» включала не тільки лекційний матеріал, але й семінар-практикум, що вигідно відрізняло цей тренінг від інших й відповідало нашим очікуванням.

Організатори тренінгу

«Honeyman Limited Group» є провідною компанією у Великій Британії, яка надає послуги фармацевтичним підприємствам з питань валідації та стандартизації на протязі 26 років.

Тренер

Директор з якості «Honeyman Group Limited», кваліфікована особа Марі Вестгарт. Стаж роботи у галузі валідації та стандартизації — 10 років.

Дата та місце проведення тренінгу

Семінар відбувся з 06.06.2017 по 07.06.2017 у приміщенні «Honeyman Limited Group» у м. Барнад Касл, Велика Британія.

Рисунок 3



Сертифікат Воловик Н. В., що підтверджує участь у тренінгу

Учасники тренінгу

Участь у тренінгу взяли спеціалісти у галузі валідації з різних фармацевтичних підприємств і міст Великої Британії та представник ДП «Фармакопейний центр» — заступник начальника відділу валідації та стандартних зразків, керівник напрямку промислової стандартизації та валідації, к. фарм. н. Воловик Наталя Валеріївна, яка була єдиною особою-учасником, що приїхала на тренінг з-за кордону. Слід відзначити, що стаж роботи учасників тренінгу з Великої Британії в області валідації очищення становив від 8 до 20 років, що свідчить про їх високу довіру до заходу. За інформацією організаторів, тренінг мав великий попит, але кількість учасників було обмежено до 13 осіб для максимальної продуктивності навчання.

Програма тренінгу

Тренінг охопив такі теми, як відповідність регуляторним очікуванням (розробка науково обґрунтованих підходів та встановлення належних критеріїв прийнятності до чистоти фармацевтичного обладнання), ефективні процедури очищення та дезінфекції, розробка ефективних аналітичних методик, валідація та контроль цих процедур. У ході тренінгу учасники отримали інформацію щодо поточних найкращих практик, очікувань cGMP та тенденцій галузі, а також щодо регуляторних питань для ринків ЄС і США.

Програма була сформована таким чином, що 50 % курсу займали лекції, решта — практичні заняття та інтерактивні семінари. У ході семінарів було проведено декілька інтерактивних досліджень конкретних прикладів (case studies), на яких учасники семінару мали у деяких випадках особисто, у інших — у групах по 2-3 особи, провести дослідження й на основі отриманих результатів дійти обґрунтованих висновків й довести їх тренеру та аудиторії. Після цього було проведено загальне обговорення. Також у рамках тренінгу було проведено практичне заняття з відбору та аналізу проб з поверхні фармацевтичного обладнання (реактору). Було розглянуто питання визначення найгірших місць з точки зору накопичення й труднощів очищення від залишків продуктів, розробки науково обґрунтованих підходів до встановлення лімітів та визначення критеріїв прийнятності (у тому числі із застосуванням підходу, що базується на оцінці ризиків) як для прямого визначення залишків, так і у промивній воді, плюси і мінуси тих чи інших аналітичних методів, придатності деяких специфічних та неспецифічних аналітичних методів, методи відбору зразків, забезпечення стабільності досягнення належ-

ного ступеню очищення, управління та контролю за змінами.

Практична значущість тренінгу

Дводенний тренінг дозволив учасникам підвищити свою кваліфікацію та отримати досвід, необхідний для надання послуг та проведення робіт з валідації очищення фармацевтичного обладнання на високому міжнародному рівні. Після завершення тренінгу, за результатами тестування, учасники отримали сертифікати.

Висновки за результатами тренінгу

1. Встановлення меж прийнятності очищення технологічного обладнання для високонебезпечних лікарських засобів⁽¹⁾ має проводитися в повному обсязі відповідно до керівництва ЕМА (ЕМА/CHMP/CVMP/SWP/169430/2012) або його еквіваленту. Для таких лікарських засобів рекомендовано застосовувати окремі приміщення та обладнання. Неприпустимим є навіть зберігання розфасованої та упакованої продукції високотоксичних лікарських засобів поряд з іншими.

2. Для лікарських засобів та активних речовин, які не підпадають під категорію високонебезпечних (тобто для більшості лікарських засобів), для встановлення критеріїв до чистоти фармацевтичного обладнання рекомендовано застосовувати підхід, який спирається на клінічні дані (1/1000 від мінімальної терапевтичної дози). Проведення повної токсикологічної оцінки для таких лікарських засобів не є обов'язковим.

3. Підприємствам, які провели валідацію очищення із застосуванням підходу, який ґрунтується на клінічних даних, не потрібно проводити ре-валідацію, якщо вони не випускають лікарські засоби, які відносять до високонебезпечних.

(1) *Примітка:* Згідно з проектом офіційних відповідей ЕМА — ЕМА/CHMP/CVMP/SWP/463311/2016: Questions and answers on implementation of risk based prevention of cross contamination in production and 'Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities', до високонебезпечних лікарських засобів та активних речовин належать:

1. Ген-токсичні (специфічно мутагенні) сполуки, які, як відомо, є або можуть бути дуже канцерогенними для людини.
2. Сполуки, які можуть викликати репродуктивні та/або ефекти, що впливають на розвиток при низьких дозах, наприклад, якщо існують докази таких ефектів, викликаних клінічною дозою < 10 мг/добу.
3. Сполуки, які можуть спричинити серйозну токсичність на органи-мішені, або інші суттєві побічні ефекти при низьких дозах, наприклад, якщо існують докази таких ефектів, викликаних клінічною дозою < 10 мг/добу.
4. Сполуки з високою фармакологічною силою, тобто з рекомендованою добовою дозою < 1 мг.
5. Сполуки з високим сенсibiliзуючим потенціалом.

Фітохімічні дослідження

УДК 615.322:582.998.1

Попова Я. В., Мазулін О. В., Буряк В. П., Мазулін Г. В., Остапенко А. О.
Запорізький державний медичний університет**Трава *Cirsium arvense* (L.) Scop. як перспективне джерело сучасних фітопрепаратів**

Досліджено компонентний склад і кількісний вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві *Cirsium arvense* (L.) Scop. Встановлено присутність та кількісний вміст 16 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. Кількісний вміст флавоноїдів у суцвіттях — до (3.10 ± 0.29) %, гідроксикоричних кислот — до (0.21 ± 0.02) %; вміст флавоноїдів у листі — до (2.59 ± 0.25) %, гідроксикоричних кислот — до (0.13 ± 0.01) %. Лікарська рослинна сировина *C. arvense* (L.) Scop. є перспективною для одержання ліофілізованих екстрактів з вираженою гепатозахисною, антиоксидантною та протизапальною дією.

Ключові слова: осот польовий, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, ВЕРХ, гепатозахисна дія, антиоксидантна дія, протизапальна дія.

У наш час у світі загострюється проблема захворювань печінки у зв'язку зі зростанням обігу великої кількості різноманітних токсичних речовин та їх постійним потраплянням до організму людини. Це, насамперед, засоби побутової хімії, алкогольні напої, лікарські препарати, хлороорганічні сполуки, солі важких металів, нітрати, інсектициди та ін. [1].

Важливу роль у захисті печінки, нормалізації її функціонування і зупинці можливих кровотеч відіграють лікарські засоби на основі рослинної сировини. Вони успішно застосовуються в офіційній та народній медицині для лікування гепатитів і станів після їх перенесення, хімічних та механічних ушкоджень печінки, її цирозу, дистрофії і жирових інфільтрацій. При цьому у відносно короткі терміни спостерігають нормалізацію стану, структури, функцій та метаболічних процесів у клітинах цього органу, пригнічення перекисного окиснення ліпідів, відновлення життєвих функцій [1-3].

Виражену гепатозахисну та протипухлинну дію виявляють сполуки рослинної сировини з груп флавоноїдів (флаволи, флавоноли), флавонолігнанів (1,4-діоксани, бензофурані), амінокислот (похідні адеметіоніну, орнітину), жирних кислот (поліненасичені, ненасичені), вітамінів (аліфатичні, аліциклічні, ароматичні, гетероциклічні) [1, 3-5].

Перспективним джерелом для одержання лікарських засобів цієї спрямованості дії є рослинні роду *Cirsium* L. (осот), роду *Asteraceae* (айстрові). У сучасній світовій флорі вони нараховують до 300 переважно багаторічних трав'янистих видів. Практично безмежно розповсюджені по території країн Європи, Північної Африки, Північної та Центральної Амери-

ки. В Україні на цей час ідентифіковано понад 30 видів осоту [6-8].

Види роду *Cirsium* L. містять похідні флавононів (лютеоліну, апігеніну), що виявляють протизапальну, сечогінну та спазмолітичну активність, флавонолів (кверцетину, кемпферолу, рутину, кверцетагетину) з вираженою протизапальною, гіпоазотемічною, Р-вітамінною та сечогінною дією.

Водночас у рослинній сировині присутні гідроксикоричні кислоти. Вони об'єднують у своїй структурі карбоксильну, фенольну та гідроксильну групи, які зв'язані з ароматичним кільцем. Сполуки виявляють виражену протизапальну і ранозагоювальну дію [4, 7, 8].

Відомим видом у роді є осот польовий (*C. arvense* (L.) Scop.). Настій трави рослини (1:10) широко використовують як ефективний гепатозахисний, протипухлинний та протизапальний засіб [4, 7]. При цьому хімічний склад рослинної сировини *C. arvense* (L.) Scop. флори України слід віднести до маловивчених. Доцільною також є розробка екстрактів з рослинної сировини, їх стандартизація та дослідження фармакологічної дії.

Метою роботи було дослідження рослинної сировини (*C. arvense* (L.) Scop.) на вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот, розробка технології одержання екстракту та визначення його фармакологічної активності.

Експериментальна частина

Об'єктами дослідження була трава (суцвіття з листям) та суцвіття *C. arvense* (L.) Scop., заготовлені в різних регіонах України під час цвітіння (червень-липень, 2012 – 2014 рр.) відповідно до загальноприйнятих вимог ДФУ [9]. Висушували сировину в сушильний шафі

Termolab СНОЛ 24/350 (Україна) ($t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$) протягом 15 год.

Ідентифікацію сполук проводили за допомогою хімічних реакцій та методу ТШХ, на пластинках Aluminium oxide 150 F 254 (0.20 мм) (MERCK, Німеччина). Хроматографічні системи для визначення флавоноїдів: бензол — етилацетат — кислота оцтова — формамід (70:30:2:1), етилацетат — кислота оцтова — вода очищена (10:2:3); для визначення гідроксикоричних кислот: хлороформ — спирт етиловий (9:1), хлороформ — спирт етиловий — кислота оцтова — вода очищена (6:2:0.1:0.1). Хроматограми висушували на сушарці УСП-2 фірми ТОВ «ИМИД» ($t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$) та переглядали в УФ-світлі з використанням робочих стандартних зразків відповідних сполук.

Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук проводили методом ВЕРХ на хроматографі Shimadzu LC-20 Prominence з УФ-детектором (Японія). Хроматографічна колонка — Phenomenex Luna C18(2), 250 мм × 4.6 мм × 5 мкм, температура колонки — $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, довжина хвилі детектування — 330 нм, швидкість потоку рухомої фази — 1 мл/хв, об'єм проби — 5 мкл. Рухома фаза: елюент А — 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді очищеній; елюент Б — 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та відповідністю УФ-спектрів спектрам речовин-стандартів [10].

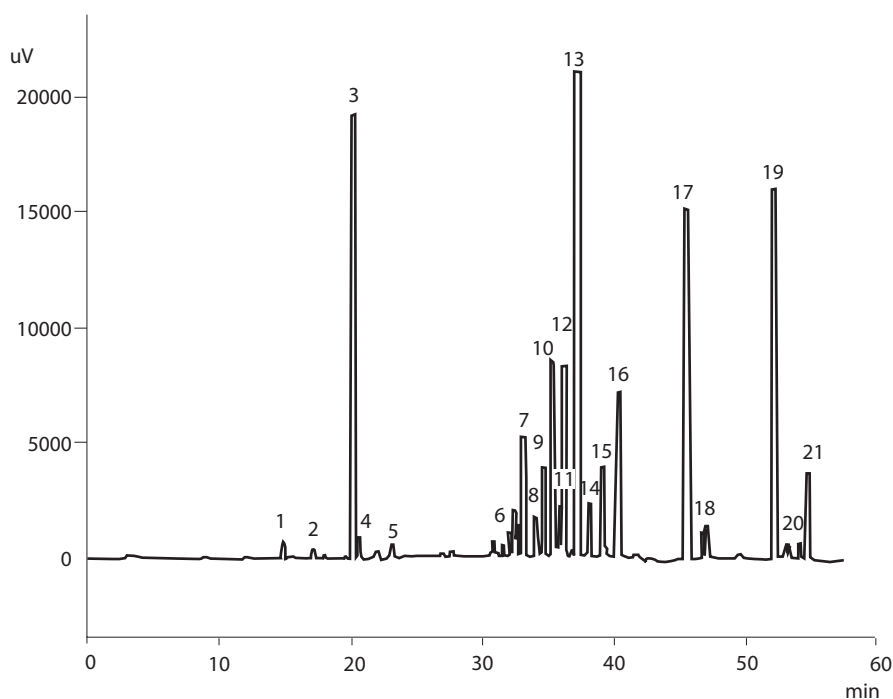
Пробопідготовка: 0.5 г (точна наважка) подрібненої рослинної сировини ($d = 0.1\text{ мм}$) поміщали в колбу місткістю 100 мл, додавали 25 мл спирту метилового 50 %, нагрівали зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 45 хв. Охолоджували, фільтрували в мірну колбу місткістю 100 мл крізь тефлоновий мембранний фільтр ($d = 0.45\text{ мкм}$) та доводили об'єм тим самим розчинником до позначки. Хроматографували 5 мкл отриманого витягу. Сполуки визначали за часом утримування порівнюючи з хроматограмами стандартних зразків та порівнюючи з мас-спектрами бібліотеки NIST02 (більше 174 000 сполук).

Ліофілізований екстракт (ЛЕ) з водного витягу (1:5) трави *C. arvensis* (L.) Scop.) отримували на установці Christ Alpha 1-2 LD plus (Німеччина).

Дослідження токсичності та визначення місцево-подразнювальної дії ЛЕ на слизову оболонку очей щурів проведено за методикою [11]. Експерименти виконані на білих безпородних щурах масою 140 — 170 г обох статей, отриманих з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України».

Визначення гепатопротекторної та антиоксидантної активності виконано на білих щурах лінії «Вістар» масою 160 — 180 г обох статей. Використовували дослідну та контрольну групи, по 7 тварин у кожній. Для моделювання токсичного гепатиту використовували дихлоретан,

Рисунок 1



Типова хроматограма поліфенольних сполук метанольного витягу з трави *C. arvensis* (L.) Scop. (1:100)

який вводили щурам внутрішньошлунково кризь металевий атравматичний зонд (500 мг/кг, 50 % розчин соняшникової олії) 1 раз на день протягом 4 днів. На 5-й день експерименту введення дихлоретану припинялося, і протягом 10 днів усім тваринам внутрішньошлунково вводили ЛЕ 1 раз на добу (100 мг/кг). Як референт-препарат застосовували «Карсил[®]» виробництва АТ «Софарма» (Болгарія) (100 мг/кг). Тварин виводили з експерименту тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Оцінювали клінічну картину, вміст загального білка, ліпідів сироватки крові, білірубину, активність трансаміназ (АЛТ, АСТ), фосфатаз (лужна (ЛФ) і кисла (КФ)), лактатдегідрогенази (ЛДГ). За активністю супероксидисмутази (СОД), глутатиопероксидази (ГПР), накопиченням продуктів окисної модифікації

білка (альдегідфенілгідрозонів і карбоксифенілгідрозонів) оцінювали стан антиоксидантної системи печінки і процесів оксидативного стресу.

Протизапальну активність ЛЕ (100 мг/кг) досліджували на білих щурах лінії «Вістар» масою 160 – 180 г обох статей. Усі тварини були розділені на чотири групи по п'ять тварин. Як флогогенний агент застосовували 1 % розчин карагеніну, субплантарно (0.1 мл на тварину); референт-препарат — «Зинаксин» фірми FERROSAN (Данія) (225 мг/кг). ЛЕ вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда за три доби до і відразу після введення флогогену. Об'єм лапки вимірювали через кратні проміжки часу.

Таблиця 1

Кількісний вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у суцвіттях і листі *C. arvensis* (L.) Scop., заготовлених у передмісті Запоріжжя (липень 2014 р.), $\mu = 6$

Найменування сполуки	λ_{\max} , нм	Кількісний вміст у суцвіттях, % ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$)	Кількісний вміст у листі, % ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$)
1. Кафтарова кислота	290	0.014 ± 0.001	0.004 ± 0.001
2. Протокатехова кислота	287	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.001
3. Хлорогенова (3-О-кавоїл-D-хінна) кислота	218; 245; 300; 329	0.15 ± 0.011	0.10 ± 0.012
4. Неохлорогенова (5-О-кавоїл-D-хінна) кислота	210; 246; 300; 330	0.01 ± 0.001	0.005 ± 0.001
5. Кавова (3,4-діоксикорична) кислота	217; 234; 299	0.03 ± 0.001	0.02 ± 0.001
6. Рутин (3-О-(β-рутинозид-3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавонон))	259; 266 пл.; 299 пл.; 300 пл.; 362	0.10 ± 0.010	0.08 ± 0.011
7. Гіперозид (3-О-(β-D-галактопіранозид 3,5,3',4'-тетрагідроксифлавонон))	257; 269 пл.; 299 пл.; 362	0.11 ± 0.011	0.10 ± 0.010
8. Апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид	268; 339	0.08 ± 0.007	0.06 ± 0.006
9. Кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид	253; 325; 370	0.14 ± 0.011	0.11 ± 0.008
10. Кемпферол-3-О-метиловий ефір	268; 351	0.18 ± 0.012	0.12 ± 0.011
11. Кемпферол-3-О-β-D-глюкопіранозид	269; 355	0.14 ± 0.013	0.13 ± 0.011
12. Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон))	254; 268 пл.; 300 пл.; 372	0.18 ± 0.015	0.15 ± 0.012
13. Лінарин (7-О-(β-рутинозид-5-гідрокси, 4'-метоксифлавонон))	269; 325	0.72 ± 0.071	0.61 ± 0.067
14. Лютеолін-5-О-β-D-глюкопіранозид	258; 262 пл.; 349	0.12 ± 0.011	0.10 ± 0.009
15. Лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид	257; 268 пл.; 347	0.20 ± 0.020	0.18 ± 0.017
16. Гіспідулін-7-О-β-D-глюкопіранозид	286; 338	0.18 ± 0.017	0.15 ± 0.015
17. Лютеолін (5,7,3',4'-тетрагідроксифлавонон))	242 пл.; 253; 267; 291 пл.; 349	0.36 ± 0.033	0.30 ± 0.029
18. Пектолінарин (7-О-(β-рутинозид 5-гідрокси,6,4'-диметоксифлавонон))	275; 330	0.03 ± 0.003	0.02 ± 0.002
19. Апігенін (5,7,4'-тригідроксифлавонон))	267; 338	0.37 ± 0.033	0.31 ± 0.030
20. Акацетин (5,7-діокси-4'-метоксифлавонон))	269; 303 пл.; 327	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.001
21. Кемпферол (3,5,7,4'-тетрагідроксифлавонон))	267; 368	0.18 ± 0.017	0.16 ± 0.014
22. Сума флавоноїдів	—	3.10 ± 0.29	2.59 ± 0.25
23. Сума гідроксикоричних кислот	—	0.21 ± 0.02	0.13 ± 0.01

Отримані результати досліджень були оброблені методом математичної статистики із застосуванням пакета ліцензійної програми Statistica 6.0 для Windows 6.1 (StatSoft Inc., № AXX R712D833214SAN5). Достовірність відмінностей величин оцінювали за t-критерієм Ст'юдента ($p > 95\%$), між експериментальними групами — за критерієм Уїтні - Манна [11-13].

Результати досліджень та їх обговорення

Одержані дані визначення флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у рослинній сировині *C. arvense* (L.) Scop. наведені на Рис. 1 та у Табл. 1.

За допомогою хімічних реакцій та методів ТШХ і ВЕРХ у рослинній сировині *C. arvense* (L.) Scop. під час цвітіння ідентифіковано до 16 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. Методом ВЕРХ встановлено, що під час цвітіння накопичуються: лінарин (до $(0.72 \pm 0.071)\%$), похідні лютеоліну (до $(0.68 \pm 0.064)\%$), апігенін (до $(0.37 \pm 0.033)\%$), похідні кемпферолу (до $(0.50 \pm 0.037)\%$), гіспідулін-7-О- β -D-глюкопіранозид (до $(0.18 \pm 0.017)\%$), кверцетин-3-О- β -D-глюкопіранозид (до $(0.14 \pm 0.011)\%$), гіперозид (до $(0.11 \pm 0.011)\%$), рутин (до $(0.10 \pm 0.010)\%$), хлорогенова кислота (до $(0.15 \pm 0.011)\%$).

Уперше нами в рослинній сировині *C. arvense* (L.) Scop. були ідентифіковані флавоноїди: гіспідулін-7-О- β -D-глюкопіранозид, кемпферол-3-О- β -D-глюкопіранозид, кверцетин-3-О- β -D-глюкопіранозид, лютеолін-5-О- β -D-глюкопіранозид, гідроксикоричні кислоти (кафтарова, протокатехова та неохлорогенова).

Досліджувані речовини у листі були ідентичними за складом та близькими у накопичуваних концентраціях до суцвіть. У суцвіттях знайдено суми флавоноїдів — до $(3.10 \pm 0.29)\%$, суми гідроксикоричних кислот — до $(0.21 \pm 0.02)\%$; у листі знайдено суми флавоноїдів — до $(2.59 \pm 0.25)\%$, суми гідроксикоричних кислот — до $(0.13 \pm 0.01)\%$.

Аналіз отриманих результатів свідчить про доцільність стандартизації трави *C. arvense* (L.) Scop. за кількісним вмістом суми флавоноїдів структури похідних лютеоліну.

Встановлено, що ЛЕ з трави *C. arvense* (L.) Scop. можна віднести до VI класу токсичності при внутрішньошлунковому введенні (відносно нешкідливі речовини). При одноразовому внутрішньошлунковому введенні в дозах понад 20 000 мг/кг ліофілізований екстракт не викликає макроскопічних змін і гіперводемичного набряку внутрішніх органів, не чинить подразнювальної дії на неушкоджену слизову оболонку ока щурів.

У дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково досліджуваний препарат виявляє антиоксидантну дію на моделі токсичного (дихлоретанового) гепатиту, достовірно знижуючи біохімічні маркери оксидативного стресу і підвищуючи активність ключових ферментів антиоксидантного захисту клітини. За рівнем гепатопротективної дії ЛЕ співвідносний з препаратом «Карсил[®]», а за силою антиоксидантної дії перевищує ефективність цього референт-препарату.

При введенні внутрішньошлунково ЛЕ з трави осоту польового виявляє протизапальну дію на моделі карагенінового запалення, достовірно знижуючи обсяг запалення, починаючи з 12 год після введення, що співвідноситься з протизапальним препаратом «Зинаксин» фірми FERROSAN (Данія).

Висновки

1. Вивчено компонентний склад та кількісний вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві осоту польового (*C. arvense* (L.) Scop.), зібраній під час цвітіння.

2. У складі рослинної сировини ідентифіковано до 21 компонента, з яких 7 — уперше.

3. Трава осоту польового є цінною рослинною сировиною для одержання ліофілізованого екстракту з гепатозахисною, антиоксидантною та протизапальною дією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доркіна Е.Г. Изучение гепатопротекторного действия природных флавоноидных соединений // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2004. — С. 41-44.
2. Головки М.П., Пенкіна Н.М., Колесник В.В. // Восточно-европейский журнал передовых технологий. — 2011. — Т. 4, № 6 (Антиоксидантні властивості деяких видів рослинної сировини). — С. 8-11.
3. Литвинова Е.В. Гепатопротекторы растительного происхождения в лечении заболеваний печени // Фитотерапия. Часопис. — 2007. — № 3. — С. 75-80.
4. Кюсов П.А. Лекарственные растения: самый полный справочник. — М.: Эксмо — Пресс, 2011. — 939 с.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства: 16-е изд., перераб. и доп. — М.: ООО «Изд. Новая волна», 2012. — 1216 с.
6. Определитель высших растений Украины / Д.Н. Доброчаева [и др.]; под ред. Ю.Н. Прокудина. — К.: Наук. думка, 1987. — 548 с.
7. Gordon E.D. Tiley. Biological Flora of the British Isles: *Cirsium arvense* (L.) Scop. // Journal of Ecology. — 2010. — Vol. 98, № 4. — P. 938-983.
8. Wright B.R., Tinker O.B. Canada thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) dynamics in young, post fire forest in Yellowstone National Park, Northwestern Wyoming // Plant Ecology — 2012. — Vol. 213, № 4. — P. 613-624.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
10. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. чл.-корр. НАН Украины В.П. Георгиевского. — Харьков.: НТМТ, 2011. — Т. 2. — 474 с.

11. Кукес В.Г., Булоев В.М., Колхир В.К. Методические указания по доклиническому изучению новых препаратов, разрабатываемых из природного сырья. — М.: Минздрав РФ. — 2005. — 348 с.

12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — 520 с.

13. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІПЕГ, 2001. — Доповнення 1. — 2004. — С. 187-221.

УДК 615.322:582.998.1

Резюме

Попова Я. В., Мазулін А. В., Буряк В. П., Мазулін Г. В., Остапенко А. А.

Запорожский государственный медицинский университет

Трава *Cirsium arvense* (L.) Scop. как перспективный источник современных фитопрепаратов

Изучен компонентный состав и количественное содержание флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *Cirsium arvense* (L.) Scop. Установлено присутствие и количественное содержание 16 флавоноидов и 5 гидроксикоричных кислот. Количественное содержание флавоноидов в соцветиях — до (3.10 ± 0.29) %, гидроксикоричных кислот — до (0.21 ± 0.02) %; флавоноидов в листьях — до (2.59 ± 0.25) %, гидроксикоричных кислот — до (0.13 ± 0.01) %. Лекарственное растительное сырье *C. arvense* (L.) Scop. является перспективным для получения лиофилизированных экстрактов с выраженной гепатозащитной, антиоксидантной и противовоспалительной активностью.

Ключевые слова: бодяк полевой, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, ВЭЖХ, гепатозащитное действие, антиоксидантное действие, противовоспалительное действие.

UDC 615.322:582.998.1

Summary

Popova Y. V., Mazulin O. V., Burak V. P., Mazulin G. V., Ostapenko A. O.

Zaporozhye State Medical University

The herb of *Cirsium arvense* (L.) Scop. is perspective source of modern herbal drugs

The aim of the work was studied the herb of *Cirsium arvense* (L.) Scop. of Ukrainian flora as perspective source of modern herbal drugs. The flores and leaves of *C. arvense* (L.) Scop. were standardized by content of biologically active substances in flowering period. The component composition and quantitative content of flavonoids and hydroxycinnamic acids in genus herbal raw materials of *C. arvense* (L.) Scop. were studied. A detection of flavonoids and hydroxycinnamic acids were con-

ducted by chemical reactions and thin layer chromatography on «Aluminium oxide 150 F 254» (0.20 mm) (MERCK, Germany) plates. The quantitative contents of the component composition of flavonoids and hydroxycinnamic acids were conducted by HPLC chromatograph «Shimadzu LC-20 Prominence» (Japan). The chromatographic column «Phenomenex Luna C18(2)» (250 mm × 4.6 mm × 5 μm). The 16 flavonoids and 5 hydroxycinnamic acids by HPTLC were identified. Quantitative content of flavonoids in the flores (up to (3.10 ± 0.29) %), hydroxycinnamic acids (up to (0.21 ± 0.02) %); flavonoids in the leaves (up to (2.59 ± 0.25) %), hydroxycinnamic acids (up to (0.13 ± 0.01) %). Quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside, luteolin-5-O-β-D-glucopyranoside, gispidulin-7-O-β-D-glucopyranoside, kampherol-3-O-β-D-glucopyranoside, caftaric, protocatechuic and neochlorogenic acids firstly were identified. Prevailing of contents there were flavonoids derivatives of luteolin. The method of *C. arvense* (L.) Scop. herbal raw materials standardization by content of the main flavonoid luteolin derivatives was proposed. The lyophilized extract of *C. arvense* (L.) Scop. herbal raw material is non-toxic substance. The herb of *C. arvense* (L.) Scop. is perspective to obtain a lyophilized extracts with hepatoprotective, antioxidant and anti-inflammatory activities.

Keywords: *Cirsium arvense* (L.) Scop., flavonoids, hydroxycinnamic acids, HPLC, hepatoprotective activities, antioxidant activities, anti-inflammatory activities.

Попова Яна Василівна. Старший лаборант кафедри управління та економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства Запорізького державного медичного університету.

Мазулін Олександр Владиленич. Д. фарм. н. (1994), професор (2008), зав. кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету.

Буряк Валерій Прокопович. Д. фарм. н. (1990), професор (1992), професор кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

Мазулін Георгій Владиленич. К. фарм. н. (2004), асистент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Остапенко Андрій Олексійович. К. фарм. н. (2010), старший викладач кафедри лабораторної діагностики і загальної патології ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Мікробіологічні дослідження

УДК 615.31'792'291.03/.04.057:615.281/.282.015

Одинцова В. М., Панасенко О. І., Книш Є. Г.
Запорізький державний медичний університет

Синтез, фізико-хімічні властивості, протимікробна та протигрибкова активність 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів

Створення вітчизняного якісного препарату складається з багатьох етапів, один із них — це синтез перспективної субстанції. Активним фармакофором є система 1,2,4-тріазолу, що стала основою синтезу речовин з різними видами активності. Сприятливе підґрунтя для синтезу нових сполук із низькою токсичністю та вираженою фармакологічною активністю створює поєднання в одній молекулі 1,2,4-тріазолу й адамантану. Перспективними у цьому напрямі досліджень є 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразиди.

Метою цієї роботи є синтез 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей, протимікробної та протигрибкової активності.

Синтезовано нові 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразиди, будову яких встановлено за допомогою сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементного аналізу, ІЧ- та ЯМР ¹Н-, ЯМР ¹³С-спектроскопії), а їхню індивідуальність — методом ВЕРХ-МС.

Визначення протимікробної і протигрибкової активності проводили методом дворазових серійних розведень у рідких живильних середовищах. У результаті проведених досліджень серед синтезованих сполук виявлені сполуки, рівень протимікробної та протигрибкової дії яких наближається, а в деяких випадках перевищує рівень дії препарату порівняння триметоприму.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, ацетогідразиди, ІЧ-, ЯМР ¹Н-, ЯМР ¹³С-спектроскопія, хромато-мас-спектри, протимікробна та протигрибкова активність.

Фармацевтична галузь є однією з тих, які найбільш динамічно розвиваються, незважаючи на складні умови сьогодення, чому значною мірою сприяє і розвиток фармацевтичної науки. Цей розвиток має бути спрямований на виконання основних функцій: створення нових високоефективних лікарських засобів, підвищення рівня медикаментозного забезпечення населення, контроль якості лікарських засобів, забезпечення організаційно-методичного супроводу фармацевтичного бізнесу, високу соціально-економічну ефективність використання ресурсів фармацевтичного сектора.

Створення вітчизняного якісного препарату складається з багатьох етапів, один із них — це синтез перспективної субстанції. Активним фармакофором є система 1,2,4-тріазолу, яка стала основою синтезу речовин з різними видами активності [1-2], серед яких протимікробна та протигрибкова активність [3-7]. Сприятливе підґрунтя для синтезу нових сполук із низькою токсичністю та вираженою фармакологічною активністю створює поєднання в одній молекулі 1,2,4-тріазолу й адамантану [8-11]. Перспективними у цьому напрямку досліджень є 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразиди.

Метою цієї роботи є синтез 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей, протимікробної та протигриб-

кової активності.

Матеріали і методи досліджень

Температуру плавлення визначали відкритим капілярним методом на приладі Opti Melt MPA 100. Елементний склад синтезованих сполук встановлено на універсальному аналізаторі Elementar Vario L cube (CHNS) (стандарт — сульфаніламід). ¹Н ЯМР-спектри були записані на спектрометрі Varian Mercury VX-200 (1H, 200 MHz) у розчиннику диметилсульфоксиді-*d*₆ (внутрішній стандарт — тетраметилсилан) та розшифровані за допомогою програми ADVASP^(tm) Analyzer program (Umatek International Inc.). Хромато-мас-спектральні дослідження проводили на газорідному хроматографі Agilent 1260 Infinity HPLC, обладнаному мас-спектрометром Agilent 6120 (іонізація в електроспреї (ESI)).

Визначення протимікробної і протигрибкової активності проводили методом дворазових серійних розведень у рідких живильних середовищах.

Як контроль протимікробної активності сполук стосовно досліджуваних штамів мікроорганізмів застосовано субстанцію антибактеріального препарату — триметоприм.

Результати досліджень і їх обговорення

Як вихідну речовину для синтезу використовували відповідний ацетогідразид (**1a-r**), 0.01 мо-

ля якого розчиняли в 30 мл метанолу, додавали 0.76 г (0.02 моля) боргідриду натрію (2). Суміш залишали на 12 год, додавали 100 мл води, нейтралізували оцтовою кислотою до pH = 7. Екстрагування проводили трихлорметаном. Перекристалізували з *n*-бутанолу. Схема синтезу представлена на Рис. 1.

Фізико-хімічні дослідження отриманих сполук проводили з використанням ІЧ-, ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-, хромато-мас-спектроскопії. Результати досліджень наведені в Табл. 1.

Будову синтезованих сполук підтверджено комплексним використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу: елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-спектроскопії, а їхню індивідуальність — методом ВЕРХ-МС [12].

В ІЧ-спектрах сполук **3a-r** наявні інтенсивні смуги коливань при 2900-2850 см⁻¹, які належать до симетричних і антисиметричних коливань СН₂-груп, а також наявні смуги коливань *ν*со-груп при 1689-1635 см⁻¹ (смуга Амід I) та 1538-1520 см⁻¹ (смуга Амід II).

В ЯМР ¹H-спектрах сполук **3a-r** присутні: шестипротонний синглет при 1.69-1.73 м. д., шестипротонний синглет при 2.06-2.09 м. д. та трипротонний синглет при 2.01-2.03 м. д., які характерні для залишку адамантану. Підтвердженням будови отриманих сполук також є наявність двопротонних синглетів N-СН₂-груп при 4.00-4.09 м. д. та S-СН₂-груп при 3.90-3.91 м. д.

В ЯМР ¹³C-спектрах сполук **3a-r** наявні сигнали карбону адамантану при 27.66-27.80, 35.41-35.30, 36.51-36.53, 38.64-38.70 м. д. Сигнали тріольного циклу при 161.63-162.51 (тріазол С-5) та 162.49-162.73 (тріазол С-3) м. д. Додатковим підтвердженням будови сполук **3a-r** є атом карбону N-СН₂, який резонує при 54.89-54.93 м. д.

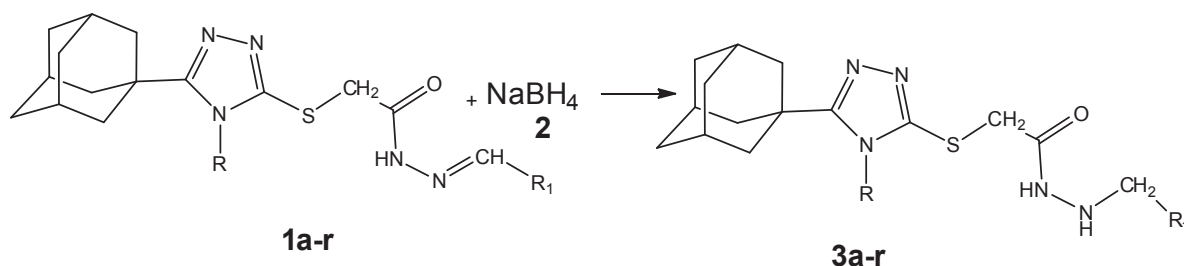
Протимікробну і протигрибкову активність отриманих сполук вивчали на базі мікробіологічної лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету.

Чутливість мікроорганізмів до синтезованих сполук визначали відповідно до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», затверджених наказом МОЗ України від 05.04.2007 № 167, та методичних рекомендацій «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів» [13]. Визначення протимікробної і протигрибкової активності проводили методом дворазових серійних розведень у рідких живильних середовищах [14]. Під час досліджень з вихідної концентрації препарату 1 мг/мл готували ряд дворазових серійних розведень препарату в бульйоні Мюллера — Хінтона об'ємом 1 мл, після чого додавали у кожен пробір по 0.1 мл мікробної завісі (мікробне навантаження до музейних штамів становило 10⁶ мікробних клітин/мл).

Як набір стандартних еталонних тест-штамів взято штами мікроорганізмів з бактеріологічної лабораторії Державної установи «Запорізький обласний лабораторний центр державної санітарно-епідеміологічної служби України»: грамозитивні (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), грамнегативні (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) і штами грибів (*Candida albicans* ATCC 885-653). Як контроль протимікробної активності сполук стосовно досліджуваних штамів мікроорганізмів застосовано субстанцію антибактеріального препарату — триметоприм. Додатково, за допомогою загальноприйнятих методик, виконано контроль живильних середовищ і розчинника.

За відсутністю видимого росту в пробірці з мінімальною концентрацією препарату визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК), а мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБцК/МФцК) — за відсутністю росту на агарі після висівання з прозорих пробірок. Розчин диметилсульфоксиду (99.80 %) у дослідженнях використовували як розчинник сполук. Результати дослідження проти-

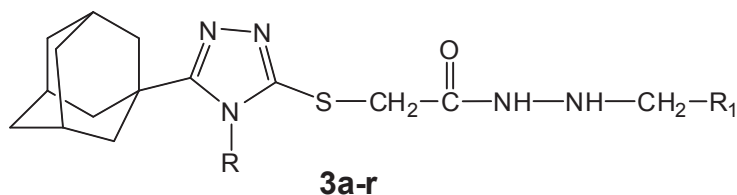
Рисунок 1



R = H, C₂H₅, C₆H₅; R₁ = C₆H₄-F-4, C₆H₄-Br-4, C₆H₄-OH-4, C₆H₄-OCH₃-4, C₆H₄-Cl-4

Схема синтезу 2-[(5-(адамантан-1-іл)-4-R-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-N'-R₁-ацетогідразидів

Таблиця 1

Фізико-хімічні константи 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів

№ сполук	R	R ₁	Т пл., °С	Брутто формула	Вихід, %	ВЕРХ-МС, m/z, M+1	Знайдено, %				Вирахувано, %			
							C	H	N	S	C	H	N	S
3a	H	C ₆ H ₄ -F-4	172-175	C ₂₁ H ₂₈ FN ₅ OS	49	416	60.60	6.77	16.78	7.69	60.41	6.76	16.77	7.68
3b	H	C ₆ H ₄ -Br-4	117-119	C ₂₁ H ₂₆ BrN ₅ OS	410	477	52.81	5.51	14.72	6.74	52.94	5.50	14.70	6.73
3c	H	C ₆ H ₄ -OH-4	173-175	C ₂₁ H ₂₇ N ₅ O ₂ S	62	414	60.73	6.59	16.90	7.73	60.99	6.58	16.94	7.75
3d	H	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	162-164	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₂ S	51	428	61.89	6.86	16.39	7.51	61.80	6.84	16.38	7.50
3e	CH ₃	C ₆ H ₄ -F-4	118-120	C ₂₂ H ₃₀ FN ₅ OS	65	430	61.49	6.53	16.27	7.48	61.51	6.57	16.30	7.47
3f	CH ₃	C ₆ H ₄ -Br-4	138-140	C ₂₂ H ₃₄ BrN ₅ OS	59	491	53.85	5.73	14.27	6.56	53.88	5.75	14.28	6.54
3g	CH ₃	C ₆ H ₄ -OH-4	100-102	C ₂₃ H ₃₃ N ₅ O ₂ S	61	428	61.79	6.83	16.37	7.48	61.80	6.84	16.38	7.50
3h	CH ₃	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	98-100	C ₂₃ H ₃₇ N ₅ O ₂ S	58	442	62.53	7.05	15.87	7.28	62.56	7.08	15.86	7.26
3i	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -F-4	168-170	C ₂₃ H ₃₀ FN ₅ OS	57	444	62.23	6.81	15.80	7.24	62.28	6.82	15.79	7.23
3j	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -Br-4	120-122	C ₂₃ H ₃₀ BrN ₅ OS	61	505	54.63	5.98	13.87	6.35	54.77	5.99	13.88	6.36
3k	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -OH-4	117-119	C ₂₃ H ₃₁ N ₅ O ₂ S	66	442	62.51	7.07	15.85	7.25	62.56	7.08	15.86	7.26
3l	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	134-136	C ₂₄ H ₃₃ N ₅ O ₂ S	63	456	63.34	7.29	15.38	7.05	63.27	7.30	15.37	7.04
3m	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -F-4	109-111	C ₂₇ H ₃₀ FN ₅ OS	65.96	492	65.95	6.15	14.22	6.54	65.96	6.13	14.25	6.52
3n	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -Cl-4	65-67	C ₂₇ H ₃₀ ClN ₅ OS	59.81	509	63.84	5.93	13.75	6.29	63.83	5.95	13.78	6.31
3o	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -Br-4	72-74	C ₂₇ H ₃₀ BrN ₅ OS	58.61	552	58.76	5.46	12.71	5.81	58.69	5.47	12.68	5.80
3p	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -OH-4	58-60	C ₂₇ H ₃₁ N ₅ O ₂ S	59.10	490	66.26	6.35	14.26	6.51	66.23	6.38	14.30	6.55
3r	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	83-85	C ₂₈ H ₃₃ N ₅ O ₂ S	61.32	504	66.75	6.59	13.87	6.36	66.77	6.60	13.90	6.37

мікробної та протигрибкової активності 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів наведені у Табл. 2.

У ході проведеного первинного скринінгового дослідження протимікробної активності синтезованих 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів **3a-r** виявилось, що ці сполуки, в основному, виявляють помірну активність щодо референтних штамів грам-позитивних, грам-негативних мікроорганізмів і грибів роду *Candida*. За результатами дослідження сполуки **3a**, **3b**, **3e**, **3f**, **3o** виявилися в 4 рази чутливішими за препарат порівняння до *S. aureus* (МІК — 7.8 мкг/мл, МБЦК — 15.6 мкг/мл). Слід відзначити, що зміна радикала R з Н- на СН₃-, С₂Н₅-, С₆Н₅- не впливає на чутливість до *S. aureus*. Виражену чутливість до *S. aureus* (МІК — 15.6 мкг/мл, МБЦК — 31.25 мкг/мл) порівнюючи з триметопримом

(МІК — 31.25 мкг/мл, МБЦК — 62.5 мкг/мл) виявили сполуки **3g**, **3i**, **3j**, **3m**.

Більш чутливими до тест-штаму *E. coli* (МІК — 15.6 мкг/мл, МБЦК — 31.25 мкг/мл) порівнюючи з контролем (МІК — 50 мкг/мл, МБЦК — 50 мкг/мл) виявилися сполуки **3d** і **3h**.

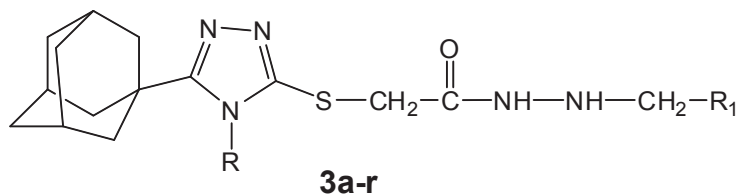
Слід зазначити, що сполуки **3l** і **3m** проявляють більшу фунгістатичну та фунгіцидну активність щодо *C. albicans* (МІК — 15.6 мкг/мл, МФЦК — 31.25 мкг/мл), ніж триметоприм (МІК — 62.5 мкг/мл, МФЦК — 125 мкг/мл), а чутливішими (МІК — 31.25 мкг/мл, МФЦК — 62.5 мкг/мл) виявилися сполуки **3b**, **3c**, **3g**, **3i** та **3k**. У решти сполук активність до *C. albicans* знаходиться на рівні з триметопримом.

Висновки

Синтезовано нові 2-[(5-(адамтан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразиди, будову яких встановлено за допомогою сучасних

Таблиця 2

Показники протимікробної та протигрибкової активності 2-[(5-(адамантан-1-іл)-4-*R*-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]-*N'*-*R*₁-ацетогідразидів



№ сполук	R	R ₁	Штами, які використовувались під час досліджень	Результат дослідження	
				МІК, мкг/мл	МБцК (МФцК для <i>C. albicans</i>), мкг/мл
3а	H	C ₆ H ₄ -F-4	<i>E. coli</i>	31.25	62.5
			<i>S. aureus</i>	7.8	15.6
			<i>P. aeruginosa</i>	31.25	62.5
			<i>C. albicans</i>	125	125
3б	H	C ₆ H ₄ -Br-4	<i>E. coli</i>	31.25	125
			<i>S. aureus</i>	7.8	15.6
			<i>P. aeruginosa</i>	125	125
			<i>C. albicans</i>	31.25	125
3с	H	C ₆ H ₄ -OH-4	<i>E. coli</i>	31.25	125
			<i>S. aureus</i>	15.6	31.25
			<i>P. aeruginosa</i>	62.5	125
			<i>C. albicans</i>	31.25	62.5
3д	H	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	<i>E. coli</i>	15.6	31.25
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	62.5	125
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
3е	CH ₃	C ₆ H ₄ -F-4	<i>E. coli</i>	31.25	62.5
			<i>S. aureus</i>	7.8	15.6
			<i>P. aeruginosa</i>	31.25	62.5
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
3ф	CH ₃	C ₆ H ₄ -Br-4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	7.8	15.6
			<i>P. aeruginosa</i>	250	250
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
3г	CH ₃	C ₆ H ₄ -OH-4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	15.6	31.25
			<i>P. aeruginosa</i>	125	125
			<i>C. albicans</i>	31.25	62.5
3h	CH ₃	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	<i>E. coli</i>	15.6	31.25
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	250	250
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
3i	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -F-4	<i>E. coli</i>	125	125
			<i>S. aureus</i>	15.6	31.25
			<i>P. aeruginosa</i>	62.5	128
			<i>C. albicans</i>	31.25	62.5
3j	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -Br-4	<i>E. coli</i>	125	125
			<i>S. aureus</i>	15.6	31.25
			<i>P. aeruginosa</i>	125	125
			<i>C. albicans</i>	62.5	125

Таблиця 2 (продовження)

№ сполук	R	R ₁	Штами, які використовувались під час досліджень	Результат дослідження	
				МІК, мкг/мл	МБЦК (МФЦК для <i>C. albicans</i>), мкг/мл
3k	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -OH-4	<i>E. coli</i>	125	125
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	125	250
			<i>C. albicans</i>	31.25	62.5
3l	C ₂ H ₅	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	62.5	125
			<i>C. albicans</i>	15.6	31.25
3m	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -F-4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	15.6	31.25
			<i>P. aeruginosa</i>	62.5	125
			<i>C. albicans</i>	15.6	31.25
3n	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -Cl-4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	15.6	31.25
			<i>P. aeruginosa</i>	125	125
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
3o	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -Br-4	<i>E. coli</i>	250	250
			<i>S. aureus</i>	7.8	15.6
			<i>P. aeruginosa</i>	250	250
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
3p	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -OH-4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	125	125
			<i>C. albicans</i>	31.25	62.5
3r	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	<i>E. coli</i>	62.5	125
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	125	250
			<i>C. albicans</i>	62.5	125
Триметоприм			<i>E. coli</i>	50	50
			<i>S. aureus</i>	31.25	62.5
			<i>P. aeruginosa</i>	62.5	125
			<i>C. albicans</i>	62.5	125

фізико-хімічних методів аналізу (елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-спектроскопії), а їхню індивідуальність — методом ВЕРХ-МС.

У результаті проведених досліджень серед синтезованих сполук виявлені сполуки, рівень протимікробної та протигрибкової дії яких наближається, а в деяких випадках перевищує дію препарату порівняння триметоприму.

Сполуки **3a**, **3b**, **3e**, **3f**, **3o** виявилися в 4 рази чутливішими за препарат порівняння до *S. aureus*.

Надалі необхідно розширити спектр дії синтезованих сполук щодо музейних і клінічних збудників інфекційних захворювань і вивчити їхню токсичність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kaldrikyan M.A. Synthesis of New 4,5-Substituted 4H-1,2,4-Triazole-3-thiols and Their Sulfanyl Derivatives / M.A. Ka-

ldrikyan, N.S. Minasyan, R.G. Melik-Ogandzhanyan // Rus. J. General Chem. — 2015. — Vol. 85, N 3. — P. 622—627.

2. Synthesis, transformations, and study of some biological properties of new 3,4,5-substituted 1,2,4-triazoles / T.R. Hovsepian, F.G. Arsenyan, L.E. Nersesyan [et al.] // Pharm. Chem. J. — 2015. — Vol. 49, N 4. — P. 231—236.

3. Synthesis and antifungal potential of 1,2,3-triazole and 1,2,4-triazole thiol substituted strobilurin derivatives / Preeti M. Chaudhary, Santosh G. Tupe, Shweta U. Jourwekar [et al.] // Ind. J. Chem. — 2015. — Vol. 54 B. — P. 908—911.

4. Synthesis, antifungal and antibacterial activity for novel amide derivatives containing a triazole moiety / Ruping Tang, Linhong Jin, Chengli Mou, Juan Yin, Song Bai, Deyu Hu, Jian Wu, Song Yang, Baoan Song // Chemistry Central Journal. — 2013. — №7 (30). — P. 1—7.

5. Исследование противомикробной и противогрибковой активности S-производных 7-((3-тио-4-R-4H-1,2,4-триазол-3-ил)метил)теофиллина / А.С. Гоцуля, А.М. Камышный, Н.Н. Полищук [и др.] // Запорожский медицинский журнал. — 2015. — № 4. — С. 95—99.

6. Протигрибкова та протимікробна активність {2-[3-гетерил-1H-1,2,4-триазол-5-іл]феніл}амінів і продуктів їх гетероциклізації / А.К. Білий, С.І. Коваленко, Л.М. Анти-

пенко, О.М. Камишний, Н.М. Поліщук // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. — 2013. — № 2 (12). — С. 80 — 82.

7. Synthesis, antifungal and antibacterial activity for novel amide derivatives containing a triazole moiety / Ruping Tang, Linhong Jin, Chengli Mou, Juan Yin, Song Bai, Deyu Hu, Jian Wu, Song Yang, Baoan Song // Chemistry Central Journal. — 2013. — №7 (30). — Р. 1 — 7.

8. Ebtehal Suliman Al Abdullah. Synthesis and biological testing of new 1-adamantyl derivatives: Submitted in Patrial Fulfillment of the Requirements for the Ph. D. Degree in Pharmaceutical Sciences «Pharmaceutical Chemistry» in the College of Pharmacy, King Saud University. — Riyadh, Saudi Arabia, 2007. — 147 p.

9. Одинцова В.М., Абрамов А.В., Бєленічев І.Ф. Хронічна токсичність субстанції адамантан-1-амонієвої солі 2-(5-(адамантан-1-іл)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-ілтіо)оцтової кислоти // Science Rise: Pharmaceutical Science. — 2016. — № 4 (4). — С. 42 — 48.

10. Пат. 113484 Україна, МПК C07D 249/00, A61K 31/00. Адамантан-1-амонію 2-((5-(адамантан-1-іл)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат, який проявляє нейрорептичну активність / Книш Є.Г., Панасенко О.І., Одинцова В.М. [та ін.]; заявник та патентовласник колектив авторів. — № a201603656; заявл. 06.04.2016; опубл. 25.01.2017, Бюл. № 2.

11. Пат. 113483 Україна, МПК C07D 249/00, A61K 31/00. Адамантан-1-амонію 2-((5-(адамантан-1-іл)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат, який проявляє жарознижуючу активність / Книш Є.Г., Панасенко О.І., Одинцова В.М. [та ін.]; заявник та патентовласник колектив авторів. — № a201603649; заявл. 06.04.2016; опубл. 25.01.2017, Бюл. № 2.

12. Казицька Л.А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и МАСС-спектроскопии в органической химии. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1979. — 236 с.

13. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»».

14. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Метод, реком. МОЗ України / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.; ДФЦ МОЗ України. — К., 2004. — 38 с.

УДК 615.31'792'291.03/.04.057:615.281/.282.015

Резюме

Одинцова В. Н., Панасено А. И., Кныш Е. Г. Запорожский государственный медицинский университет

Синтез, физико-химические свойства, противомикробная и противогрибковая активность 2-[(5-(адамантан-1-ил)-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-3-ил)тіо]-N'-R1-ацетогідрозидов

Создание отечественного качественного препарата состоит из многих этапов, один из них — это синтез перспективной субстанции. Активным фармакофором является система 1,2,4-триазола, ставшая основой синтеза веществ с разными видами активности. Подходящую основу для синтеза новых соединений с низкой токсичностью и выраженной фармакологической активностью создает соединение в одной молекуле 1,2,4-триазола и адамантана. Перспективными в этом направлении исследований являются 2-[(5-(адамантан-1-ил)-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-3-ил)тіо]-N'-R1-ацетогідрозиды.

Целью работы является синтез 2-[(5-(адамантан-1-ил)-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-3-ил)тіо]-N'-R1-ацетогідрозидов, изучение их физико-химических свойств, противомикробной и противогрибковой активности.

Синтезированы новые 2-[(5-(адамантан-1-ил)-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-3-ил)тіо]-N'-R1-ацетогідрозиды, строение

которых установлено при помощи современных физико-химических методов анализа (элементного анализа, ИК- и ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-спектроскопии), а их индивидуальность — методом ВЭЖХ-МС.

Определение противомикробной и противогрибковой активности проводили методом двукратных серийных разведений в жидких питательных средах. В результате проведенных исследований среди синтезированных соединений обнаружены соединения, уровень противомикробного и противогрибкового действия которых приближается, а в некоторых случаях превышает уровень препарата сравнения триметоприма.

Ключевые слова: 1,2,4-триазол, ацетогідрозиды, ИК-, ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-спектроскопия, хромато-масс-спектры, противомикробная и противогрибковая активность.

UDC 615.31'792'291.03/.04.057:615.281/.282.015

Summary

Odyntsova V. M., Panasenko O. I., Knysh E. G. Zaporozhye State Medical University

Synthesis, physical-chemical properties, antibacterial and antifungal activity of 2-[(5-(adamantane-1-yl)-4-R-4H-1,2,4-triazoles-3-yl)thio]-N'-R1-atsetohydrazides

The pharmaceutical industry is one of the most, which is dynamically developing despite the difficult conditions today, what greatly contributes to the development of pharmaceutical science. Creation of a native quality drug consists of many stages, one of them is the synthesis of perspective substances. The active pharmacophore is 1,2,4-triazoles system, which became the basis for the synthesis of compounds with different types of activity. The combination of 1,2,4-triazole and adamantane in one molecule creates favorable conditions for the synthesis of new compounds with low toxicity and pronounced pharmacological activity. Perspective in this direction of research is 2-[(5-(adamantane-1-yl)-4-R-4H-1,2,4-triazoles-3-yl)thio]-N'-R1-atsetohydrazides.

The aim of this work is the synthesis of 2-[(5-(adamantane-1-yl)-4-R-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio]-N'-R1-acetylhydrazide, studying of their physico-chemical properties, antimicrobial and antifungal activity.

The melting temperature indicated by open capillary method on the Opti Melt MPA 100 apparatus. The elementary composition established on the universal analyzer Elementar Vario L cube (CHNS) (sulfanilamide as a standard). The ¹H NMR spectra were recorded on a Varian Mercury VX-200 spectrometer (1H, 200 MHz) in a dimethylsulfoxide-d₆ (tetramethylsilane as internal standard) and decoded by means of ADVASP^(tm) program and Analyzer program (Umatek International Inc.). Chromatography mass spectral researches were performed on the gas-liquid chromatograph Agilent 1260 Infinity HPLC with equipped mass spectrometer Agilent 6120 (ionization in the electro-spray ESI). The identification of antimicrobial and antifungal activity performed by the method of double serial dilutions in liquid nutrient mediums.

Synthesized new 2-[(5-(adamantane-1-yl)-4-R-4H-1,2,4-triazoles-3-yl)thio]-N'-R1-atsetohydrazides, the structure of which is established, using modern physical and chemical methods of analysis (elemental analysis, IR- and NMR ¹H-, NMR ¹³C-spectroscopy), and their personality — using TOP-MS method.

Because of research, among the synthesized compounds identified substances, the level of antimicrobial and antifungal action of which is approaching, and in some cases exceeds the comparative drug — trimethoprim.

In the future, it is necessary to expand the range of action of the synthesized compounds towards museums and clinical pathogens of infectious diseases and explore their toxicity.

Keywords: 1,2,4-triazoles, atsetohydrazides, IR-, NMR ¹H-, NMR ¹³C-spectroscopy, chromatography mass spectrum, antimicrobial and antifungal activity.

Одинцова Віра Миколаївна. К. фарм. н. (2011), доцент кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки Запорізького державного медичного університету (2012).

Панасенко Олександр Іванович. Професор (2007), д. фарм. н. (2005), завідувач кафедри токсикологічної і неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (2009).

Книш Євгеній Григорович. Професор (1989), д. фарм. н. (1987), завідувач кафедри управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства Запорізького державного медичного університету (1997).

Фармакологічні дослідження

УДК 615.31'214.22:[547/792'241.024+547.292'792'201.024]

Пругло Є. С., Панасенко О. І., Книш Є. Г.
Запорізький державний медичний університет

Анксиолітична активність N-похідних 4-аміно-5-метил-4H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та солей 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтової кислоти

Тривожні розлади є одними з найбільш поширених психічних захворювань, які погіршують функціональні характеристики особистості і супутніх захворювань.

Отже, актуальним завданням психофармакології є пошук не тільки ефективних препаратів для лікування тривожних розладів або депресії, але і препаратів, що поєднують ефективність та безпечність.

З метою виявлення речовин, які проявляють анксиолітичні властивості, сполуки вивчалися в тесті піднятого хрестоподібного лабіринту за методом S. Pellow на білих нелінійних щурах ($n = 112$).

Так, найактивнішою серед досліджуваних сполук можна вважати 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтову кислоту, яка збільшувала перебування тварин в освітленому рукаві у 1.44 рази ($p < 0.05$).

Також було встановлено, що наявність у молекулі 4-((2-гідроксибензиліден)аміно)-5-метил-4H-1,2,4-тріазол-3-тіону залишку 2-гідроксибензальдегіду за аміногрупою за N_4 -атомом нітрогену проявляє анксиолітичні властивості сполуки 1d.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, тривожні стани, анксиолітичні засоби, заспокійливі засоби, щури.

Вступ

Тривога є поведінковим механізмом тварин, щоб впоратися з важкими ситуаціями. Страх і тривога — такі ж самі фізичні і психічні симптоми, як уникнення і гіпернашорошеність, щоб уникнути пошкодження від подразника [1, 2].

У більшості популяцій тривожні розлади є одними з найбільш поширених психічних захворювань, які погіршують функціональні характеристики особистості з хронічними захворюваннями [3, 4].

А втім, більшість пацієнтів з тривожними розладами відчують поступове зменшення симптомів при безперервному застосуванні селективних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну і швидкому знятті симптомів із використанням бензодіазепінів, таких як діазепам [5].

Найрізноманітніші речовини здатні пригнічувати центральну нервову систему (ЦНС), викликаючи заспокоєння і сонливість. Ефект транквілізаторів і снодійних ліків перших поколінь залежить від дози — послідовно виникають загальмованість, сон, втрата свідомості, загаль-

на анестезія, кома і, зрештою, смерть внаслідок пригнічення дихання і кровообігу [6].

Отже, актуальним завданням психофармакології є пошук не тільки ефективних препаратів для лікування тривожних розладів або депресії, але і препаратів, що поєднують ефективність та безпеку в лікуванні тривожних і депресивних станів.

Матеріали та методи досліджень

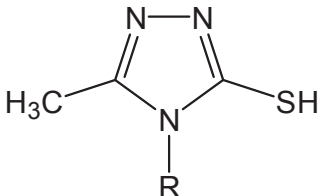
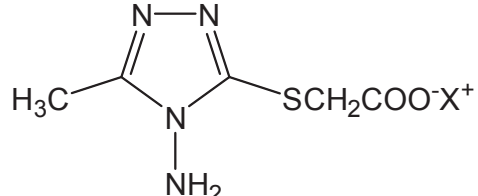
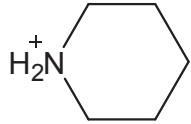
Для дослідження анксиолітичної активності були відібрані похідні 5-метил-4-аміно-4H-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Табл. 1).

Анксиолітичну та анксиогенну активність досліджуваних сполук вивчали в тесті піднятого хрестоподібного лабіринту (ПХЛ) [7].

Метод за S. Pellow ґрунтується на тому, що дослідні тварини надають перевагу темним місцям, перебування на відкритих ділянках та падіння з висоти викликає у тварин страх. ПХЛ являє собою хрестоподібний майданчик ($10 \times 10 \times 50$ см), який розходиться від центра під прямим кутом на чотири рукави. ПХЛ знаходився на висоті 1 м над підлогою.

Таблиця 1

Структура N-похідних 4-аміно-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіонів та солей 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтових кислот

			
Сполука	R	Сполука	X ⁺
1a	-NH ₂	2a	H ⁺
1b	-N = CH ₂ -C ₆ H ₄ -4-N(CH ₃) ₂	2b	
1c	-N = CH ₂ -C ₆ H ₄ -4-NO ₂	2c	NH ₄ ⁺
1d	-N = CH ₂ -C ₆ H ₄ -2-OH	2d	K ⁺
1e	-N = CH ₂ -C ₆ H ₄ -4-OH	2e	SZn ⁺⁺
		2f	1/3Fe ⁺⁺⁺

Перед початком експерименту щурів тримали протягом 5 хв у темних клітках. Тварин поміщали в ПХЛ на центральний майданчик головою до відкритого освітленого рукава і щохвилини протягом 5 хв візуально реєстрували латентний період першого заходу до рукава, час перебування в освітлених, темних рукавах, на центральному майданчику та кількість заходів до відкритих та закритих рукавів. ПХЛ перед помещенням кожної нової тварини протирали вологою тканиною для запобігання чуттю дослідними тваринами інших особин.

Сполуки вводили внутрішньоочередивно (нерозчинні стабілізували твіном 80) в дозах 1/10 від LD₅₀ за 30 хв до тестування. При вивченні гострої токсичності нами був вибраний табличний експрес-метод за В. Б. Прозоровським. В основі методу лежить пропозиція ви-

користовувати досліджувані речовини в дозах, що розміщені по логарифмічній шкалі з інтервалом 0.1, а всі можливі достовірні результати LD₅₀ та їхні похибки розраховані попередньо за програмою пробіт-аналізу (Табл. 2) [8]. Препарат порівняння гідазепам вводили в дозі 7 мг/кг [9]. Для кожної дослідної, контрольної та групи, що отримувала гідазепам, використовували по 7 тварин.

Анксиолітичний ефект досліджуваних сполук оцінювали за збільшенням кількості переходів до освітлених рукавів та часу перебування в них без збільшення загальної кількості заходів [10].

Результати досліджень оброблені сучасними статистичними методами аналізу на персональному комп'ютері з використанням, зокрема, стандартного пакета програм Microsoft

Таблиця 2

Гостра токсичність N-похідних 4-аміно-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіонів та солей 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтових кислот та використані дози

Ч. ч.	Сполука	Гостра токсичність, LD ₅₀	
		M ± S _{LD50r}	мг/кг
1	1a	153 ± 35	15
2	1b	263 ± 26	26
3	1c	450 ± 54	45
4	1d	363 ± 117	36
5	1e	348 ± 68	35
6	2a	289 ± 92	29
7	2b	977 ± 92	98
8	2c	714 ± 56	71
9	2d	482 ± 104	48
10	2e	334 ± 57	33
11	2f	624 ± 83	62

Office 2010 (Microsoft Excel) та STATISTICA® for Windows 6.0. Розраховували середні арифметичні (M) та стандартні похибки середньої ($\pm m$). Статистичну значущість міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановлювали за допомогою t-критерію Стьюдента [11, 12].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати експериментальних досліджень показали (Табл. 3), що в умовах тесту ПХЛ після введення досліджуваних сполук не було виявлено речовин з анксиолітичною дією, яка б значно перевищувала за активністю препарат порівняння гідазепам, але була виявлена сполука з анксиогенною дією.

Встановлено, що під дією препарату порівняння гідазепаму на дослідних тварин збільшувався латентний період входу до рукавів з 7.14 с до 24.57 с, що в 7.64 рази вище, ніж у контрольній групі. Також еталонний препарат більше ніж у 2 рази збільшував показник перебування тварин в освітлених рукавах, при цьому знижував майже в 3 рази (2.92) тривалість відвідування темних рукавів та у 1.85 рази збільшував показник перебування тварин на центральному майданчику, що свідчить про виражену анксиолітичну дію.

Серед усіх досліджуваних N-похідних 4-аміно-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіонів та солей 2-(4-

аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтових кислот найвиразніше проявляла анксиолітичну дію 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтова кислота, за впливу якої у 1.91 рази підвищувалася тривалість перебування тварин в освітлених рукавах, у 1.81 рази зменшувалася тривалість перебування у темних рукавах та у 1.25 рази підвищувалася тривалість перебування тварин на центральному майданчику.

Зниження кількості відвідувань темних рукавів можна розглядати як відсутність тривожності дослідних тварин. При порівнянні гідазепаму та сполуки **2a** за цим показником встановлено, що сполука **2a** статистично значуще зменшувала кількість відвідувань тваринами темних рукавів (у 4.26 рази), тоді як гідазепам зменшував значення цього показника у 2.43 рази, при цьому підвищувалась кількість відвідувань освітленого рукава у 1.25 рази, а **2a** збільшувала це значення у 1.44 рази.

Тому хоча сполука **2a** і не перевищує за усіма показниками препарат порівняння, але заслуговує на додаткові дослідження анксиолітичної дії на інших моделях.

Окремої уваги потребує 4-((2-гідроксибензиден)аміно)-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіон (**1d**), який у 4.1 рази у порівнянні з контролем збільшував тривалість перебування в освітлених рукавах ПХЛ, при цьому всього у 1.66 рази зменшилось перебування тварин в

Таблиця 3

Вплив похідних 1,2,4-тріазолу на поведінку тварин у тесті ПХЛ (n = 7)

Сполука/ група	Показники					
	Латентний період входу до рукавів, с	Перебування			Кількість відвідувань рукавів	
		В освітлених рукавах, с	У темних рукавах, с	На центральному майданчику, с	Освітлених	Темних
Контроль	7.14 ± 1.49	59.71 ± 6.02	183.29 ± 8.72	49.86 ± 4.85	1.71 ± 0.55	2.43 ± 0.65
Гідазепам	24.57 ± 3.70*	120.71 ± 11.94*	62.71 ± 4.78*	92.00 ± 10.66*	2.14 ± 0.26	1.00 ± 0.31
Контроль	6.43 ± 1.23	64.57 ± 6.88	164.57 ± 8.56	64.43 ± 5.59	1.29 ± 0.29	2.43 ± 0.37
1c	3.43 ± 0.37*	7.86 ± 2.41*	259.57 ± 4.74*	29.14 ± 2.63*	0.57 ± 0.20	1.14 ± 0.34*
1a	4.00 ± 1.00	37.14 ± 9.38	221.43 ± 11.20*	37.43 ± 6.03*	1.86 ± 0.51	3.00 ± 0.82
2a	4.57 ± 0.20	123.71 ± 13.08*	91.14 ± 11.58*	80.57 ± 3.75*	1.86 ± 0.26	0.57 ± 0.20*
Контроль	5.71 ± 1.92	39.86 ± 5.02	193.57 ± 6.24	60.86 ± 3.71	1.14 ± 0.40	2.29 ± 0.61
1d	4.57 ± 0.84	163.43 ± 5.48*	116.57 ± 5.54*	15.43 ± 1.86*	0.14 ± 0.14*	0.29 ± 0.18*
1e	7.71 ± 3.12	6.43 ± 1.51*	196.86 ± 5.68	89.00 ± 7.39*	0.29 ± 0.18	0.43 ± 0.20*
1b	3.29 ± 0.68	38.00 ± 10.96	211.14 ± 11.41	47.57 ± 3.02*	0.29 ± 0.18	0.29 ± 0.18*
2b	8.43 ± 1.21	71.86 ± 6.74*	205.14 ± 6.25	14.57 ± 1.31*	0.57 ± 0.30	1.00 ± 0.44
Контроль	5.43 ± 0.87	65.29 ± 6.90	164.00 ± 5.67	65.29 ± 5.95	1.14 ± 0.40	2.57 ± 0.57
2c	2.86 ± 1.01	47.71 ± 5.92	196.29 ± 8.39*	53.14 ± 4.04	0.86 ± 0.26	0.71 ± 0.28*
2d	3.57 ± 0.72	36.29 ± 6.54*	206.00 ± 7.92*	54.14 ± 3.55	1.43 ± 0.20	2.00 ± 0.69
2e	4.71 ± 0.71	71.17 ± 7.87	180.29 ± 13.30	54.00 ± 2.57	0.71 ± 0.29	2.14 ± 0.60
2f	4.71 ± 0.28	45.86 ± 6.78	188.57 ± 5.77*	60.86 ± 4.72	1.29 ± 0.29	1.29 ± 0.36

* — результати достовірні щодо контрольної групи (p ≤ 0.05).

темних рукавах. Також варто зазначити, що на відміну від гїдазепаму, **1d** в 3.94 рази зменшував перебування тварин на центральному майданчику ПХЛ, тоді як гїдазепам сприяв підвищенню цього показника з 49.86 с до 92.00 с (зростання у 1.84 рази).

Цікаво вказати, що досліджувані тварини при застосуванні сполуки **1d** у 7.9 рази зменшували кількість відвідувань темних рукавів ПХЛ та у 8.14 рази зменшували кількість відвідувань освітлених рукавів.

Провівши аналіз отриманих даних, ми виявили ряд сполук з анксиогенною дією.

Так, найвиразнішу анксиогенну дією мала сполука **1c**, яка сприяла зростанню тривалості перебування дослідних тварин в темних рукавах ПХЛ у 1.58 рази та зменшувала тривалість перебування тварин в освітлених рукавах ПХЛ у 8.22 рази.

Дещо менш виразно за дією сполуки **1a** збільшувалась тривалість перебування тварин в темних рукавах ПХЛ (у 1.35 рази) та зменшувалась тривалість перебування в освітлених рукавах (у 1.74 рази). Найбільша кількість відвідувань темних рукавів спостерігалась при застосуванні сполуки **1a** (у 1.23 рази).

Отже, можна припустити, що зазначені вище сполуки впливають на 5-HT₂-рецептори. Так, відомо, що агоністи 5-HT_{2C}-рецепторів викликають анксиогенний і панічний ефекти, порушують сон [13, 14].

За результатами проведених досліджень та з урахуванням тривалості знаходження дослідних тварин в освітлених рукавах на фоні впливу похідних 1,2,4-тріазолу можна виявити деякі закономірності анксиолітичної дії до-

сліджуваних сполук, що залежать від хімічної будови (Табл. 4).

Так, при конденсації вихідного 4-аміно-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіону з 4-нітробензальдегідом при дослідженні анксиолітичної дії спостерігалось зменшення тривалості перебування дослідних тварин в освітлених рукавах ПХЛ з 37.14 с до 7.86 с. Тоді як введення за цим же положенням залишку 4-гідроксибензальдегіду знижувало тривалість перебування в освітлених рукавах до 6.43 с.

Відмічено, що при заміні зазначеного вище 4-гідроксибензальдегіду на 2-гідроксибензальдегід спостерігається виразна анксиолітична дія, що проявляється тривалим перебуванням дослідних тварин, що отримували 4-((2-гідроксибензиліден)аміно)-5-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіон.

При аналізі анксиолітичної дії солей 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтової кислоти було встановлено, що найактивнішою виявилась вихідна кислота, яка сприяла тривалому знаходженню дослідних тварин у відкритих рукавах ПХЛ.

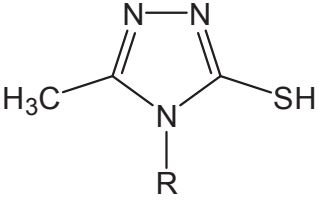
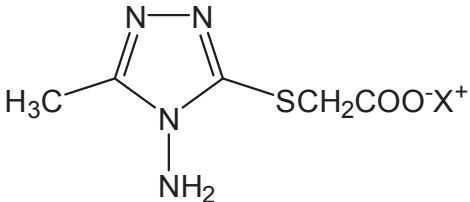

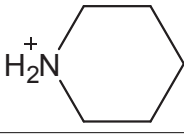
Так, в ряду від калієвої солі **2d** до морфолінієвої солі 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтової кислоти (спол. **2b**) спостерігалось поступове зростання тривалості перебування дослідних тварин у відкритих рукавах ПХЛ (від 36.29 с до 71.86 с відповідно).

Висновки

Найактивнішою серед досліджуваних сполук можна вважати 2-(4-аміно-5-метил-1,2,4-

Таблиця 4

Залежність «хімічна будова — анксиолітична дія»

	<p>Тривалість знаходження в освітленому рукаві</p>		
<p>R</p> <p>-N=CH₂-C₆H₄-4-OH</p> <p>-N=CH₂-C₆H₄-4-NO₂</p> <p>-NH₂</p> <p>-N=CH₂-C₆H₄-4-N(CH₃)₂</p>		<p>Зростання анксиолітичної активності</p>	<p>X⁺</p> <p>K⁺</p> <p>1/3 Fe⁺⁺⁺</p> <p>NH₄⁺</p> <p>SZn⁺⁺</p>
<p>-N=CH₂-C₆H₄-2-OH</p>			 <p>H⁺</p>

триазол-3-илтио)оцтову кислоту, яка збільшувала перебування тварин в освітленому рукаві у 1.44 рази ($p < 0.05$).

Наявність в молекулі 4-((2-гідроксибензиліден)аміно)-5-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-тіону залишку 2-гідроксибензальдегіду за аміногрупою за N_4 -атомом нітрогену проявляє анксиолітичні властивості сполуки **1d**.

Отже, за встановленими закономірностями хімічної будови та анксиолітичної дії можна припустити, що цілеспрямований синтез 2-((2-гідроксибензиліден)аміно)-5-метил-1,2,4-триазол-3-илтио)оцтової кислоти має привести до створення анксиолітика на основі зазначеної вище молекули.

ЛІТЕРАТУРА

- Bernick M. Aspectos clínicos e farmacológicos dos tranquilizantes benzodiazepínicos. São Paulo: Edições Médica, 2010. — V. 1. — 209 p.
- Higgins E.S., George M.S. Neurociências para psiquiatria clínica. — Porto Alegre: ARTMED, 2010. — 320 p.
- Campbell-Sills L., Stein M.B., Sherbourne C.D., Craske M.G., Sullivan G., Golinelli D. et al. Effects of medical comorbidity on anxiety treatment outcomes in primary care // Psychosom. Med. — 2013. — 75 (8). — P. 713–20.
- Johansson R., Carlbring P., Heedman A., Paxling B., Anderson G. Depression, anxiety and their comorbidity in the Swedish general population: point prevalence and the effect on health-related quality of life // Peer. J. — 2013. — Jul. 9;1:e98.
- Ravindran L.N., Stein M.B. The pharmacologic treatment of anxiety disorders: a review of progress // J. Clin. Psychiatry. — 2010, № 71(7). — P. 839–54.
- Клиническая фармакология по Гудману и Гилману / под ред. А.Г. Гилмана. — М.: Практика, 2006. — 1850 с.
- Pellow S., Chopin P., File S.E. et al. // J. Neurosci. Methods. — 1985. — V. 14. — P. 149-167.
- Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований // Психофармакология и биологическая наркология. — 2007. — Т. 7, Вып. 3–4. — С. 2090–2120.
- Патент № 2133248 РФ, МПК7 C07D243/24, A61K31/55. Производные 1,4-бензодиазепина, обладающие селективной анксиолитической активностью // Изобретения. Полезные модели. — 20.07.1999.
- Воронина Т.А., Середенин С.Б. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: ИИА Ремедиум, 2000. — С. 126–130.
- Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — 2-е изд., перераб. и доп. — К.: Морион, 2001. — 408 с.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: МедиаСфера, 2002. — 312 с.
- Martin G.R. et al. 5-HT_{2C} receptor agonists and antagonists in animal models of anxiety // Eur. Neuropharmacol. — 1995. — Vol. 5. — P. 209.
- 5-HT₂ ligands in the treatment of anxiety and depression / GaeËl Quesseveur, Hai T. Nguyen, Alain M. Gardier, Bruno P. Guiard // Expert Opinion on Investigational Drugs, 08/2012; 21(11):1701-25.
- УДК 615.31'214.22:[547/792'241.024 + 547.292'792'201.024] Резюме
Пругло Е. С., Панасенко А. И., Кныш Е. Г.
Запорожский государственный медицинский университет
Анксиолитическая активность N-производных 4-амино-5-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-тионов и солей 2-(4-амино-5-метил-1,2,4-триазол-3-илтио)уксусной кислоты
Тревожные расстройства являются одними из наиболее распространенных психических заболеваний, которые ухудшают функциональные характеристики личности и сопутствующих заболеваний.
Таким образом, актуальной задачей психофармакологии является поиск не только эффективных препаратов для лечения тревожных расстройств или депрессии, но и препаратов, сочетающих эффективность и безопасность.
С целью выявления веществ, которые проявляют анксиолитические свойства, соединения изучались в тесте приподнятого крестообразного лабиринта методом S. Pellow на белых нелинейных крысах (n = 112).
Так, активной среди исследуемых соединений можно считать 2-(4-амино-5-метил-1,2,4-триазол-3-илтио)уксусную кислоту, которая увеличивала пребывание животных в освещенном рукаве в 1.44 раза ($p < 0.05$).
Также было установлено, что наличие в молекуле 4-((2-гідроксибензиліден)аміно)-5-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-тіона остатка 2-гідроксибензальдегіда по аміногрупі по N_4 атому азота проявляє анксиолітичні властивості сполуки **1d**.
Ключевые слова: 1,2,4-триазол, тревожные состояния, анксиолитические средства, успокаивающие средства, крысы.
UDC 615.31'214.22:[547/792'241.024 + 547.292'792'201.024] Summary
Pruglo Ye. S., Panasenko O. I., Knysh Ye. G.
Zaporizhia State Medical University
Anxiolytic activity of 4-amino-5-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-thione N-derivatives and 2-(4-amino-5-methyl-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetic acid salts
Anxiety disorders are among the most common mental illness in most populations that lead to disease, make worse functional personality characteristics and comorbidities of chronic diseases.
Thus, psychopharmacology's urgent task is to search for not only effective drugs for the treatment of anxiety disorders or depression but also for drugs that combine efficiency and safety in the treatment of anxiety and depression.
To investigate the anxiolytic activity were selected the derivatives of 5-methyl-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-thione.
Anxiogenic and anxiolytic activities of the studied compounds in the test were explored by elevated cruciform maze (ECM).
The method by S. Pellow is based on giving benefits of experimental animal to dark places, natural fear of open areas and falling from height. ECM was a cruciform platform (10×10×50 cm) which diverges on the right angle from the center for four sleeves. ECM was at the height of 1 m above the floor.
The results of experimental studies have shown that in the ECM test after injection of the studied compounds it were not found the substances with anxiolytic effect which would significantly exceed the activity of reference drug Gidazepam but it was discovered compound with anxiogenic action.
Thus we assume that the above compounds can affect 5-HT₂-receptors. It is known that agonists of the 5-HT_{2C}-receptors cause panic and anxiogenic effects which disrupt sleep.
The most active compound can be considered the 2-(4-амино-5-метил-1,2,4-триазол-3-илтио) ацетична кислота, яка збільшувала перебування тварин в освітленому рукаві у 1.44 рази ($p < 0.05$).

The presence of 2-hydroxybenzaldehyde residue by the amino group of N4 nitrogen atom in the molecule of 4-((2-hydroxybenzylidene) amino)-5-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-thione shows its anxiolytic properties.

Thus by the established patterns between chemical structure and anxiolytic action it may be assumed that purposeful synthesis of 2-(((2-hydroxybenzylidene)amino)-5-methyl-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetic acid can lead to the creation of anxiolytic drug based on the aforesaid molecule.

Keywords: triazoles, anxiety, anti-anxiety agents, sedatives, rat.

Пругло Євген Сергійович. Доцент кафедри клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ

Запорізького державного медичного університету, к. фарм. н. (2012).

Панасенко Олександр Іванович. Завідувач кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету, професор (2006), д. фарм. н. (2005).

Книш Євгеній Григорович. Завідувач кафедри управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства Запорізького державного медичного університету, професор (1988), д. фарм. н. (1987).

Будова і властивості

УДК 543.42:615.273

Гречана О. В., Сербін А. Г., Буряк В. П.
Запорізький державний медичний університет
Національний фармацевтичний університет

Спектрофотометричний метод дослідження аценокумаролу

Серцево-судинні захворювання, а саме системна емболія та кардіоемболічний інсульт, є найчастішою причиною летальності серед людей. В останні роки у кардіології зростає застосування пероральних антикоагулянтів, зокрема аценокумаролу. Незважаючи на застосування даного препарату в терапевтичній практиці, його фізико-хімічні властивості вивчені недостатньо.

Під час дослідження нами були вивчені УФ-спектри аценокумаролу в розчинниках різної полярності, встановлена природа смуг поглинання, виявлена фізіологічно активна частина молекули (фармакофор), а на підставі розрахунку основних оптичних характеристик електронних спектрів поглинання досліджуваної речовини визначені дозволенисть та вірогідність переходу електронів у його молекулі.

Ключові слова: 4-оксикумарин, аценокумарол, УФ-спектри, фармакофор, переходи електронів.

Молекула кумарину входить до складу поширеної групи лікарських сполук, які доволі часто застосовуються в лікуванні серцево-судинних захворювань [1, 2], і тому цілком зрозумілою є зацікавленість дослідників у ретельному вивченні фізико-хімічних властивостей цих препаратів.

Як свідчать дані наукової літератури, π -електронна система α -пірону складається з восьми рухливих електронів: чотири π -електрони кратних $C = C$ зв'язків, неподілена пара гетероатома кисню та два π -електрони атомного угруповання $C = O$. У зв'язку з тим, що з семи молекулярних орбіталей α -пірону чотири є сполученими, а три — розпушувачими, усі вісім рухливих електронів α -пірону можуть бути розміщені на сполучених орбіталах, що спричиняє утворення стійкої замкненої оболонки, тобто такої оболонки, в якій усі сполучені орбіталі заповнені, а розпушувачі — вільні [3].

Пошук нових лікарських засобів на основі похідних 4-оксикумарину є можливим тільки у разі вивчення структури сполуки на підставі

дослідження їхніх УФ-спектрів і встановлення залежності «структура — дія».

Метою нашого дослідження було вивчення УФ-спектрів аценокумаролу в розчинниках різної полярності для встановлення залежності між характером електронних спектрів аналізованої сполуки і її структурою з метою виявлення фармакофора, що безумовно буде сприяти розробці теорії цілеспрямованого синтезу сполук як антикоагулянтів непрямої дії [4].

Матеріали та методи дослідження

Стандартний зразок аценокумаролу (4-гідрокси-3-[1(4-нітрофеніл)-3-оксобутил]2Н-1-бензопіран-2-он) для вивчення УФ-спектрів був одержаний нами від ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Використані у досліді розчинники були виготовлені з реагентів кваліфікації «х. ч.» (Табл. 1).

Причиною вибору зазначених розчинників було таке:

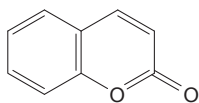
а) можливість виявлення наявності $\pi \rightarrow \pi^*$ або $n \rightarrow \pi^*$ -переходів за характером зміщен-

- ня смуг поглинання від полярності використаних розчинників (циклогексан, діоксан, хлороформ порівнюючи з водою або 95% етанолом);
- необхідність вибору розчинників, які утворюють розчини з найбільш високою оптичною густиною;
 - можливість утворення солей у 0.1 М НСІ та 0.1 М NaOH або солей оксонію у концентрованої сірчаній кислоті, а також виявлення гідролітичних процесів у лужному або кислотному середовищі;
 - вивчення ефектів взаємодії аналізованої сполуки із розчинником для одержання повної інформації про природу електронних переходів у досліджуваній молекулі.

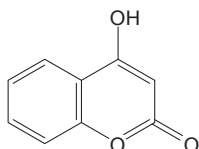
УФ-спектри аценокумаролу вимірювали за допомогою спектрофотометра SPECORD 200 (Німеччина) із дотриманням вимог Державної Фармакопеї України [5].

Для вивчення електронних спектрів аценокумаролу попередньо були виміряні УФ-спектри двох модельних сполук — кумарину (I) та 4-оксикумарину (II) в еталонних розчинах (Рис. 1).

Рисунок 1



Кумарин (I)

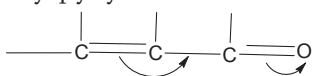


4-оксикумарин (II)

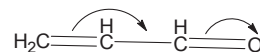
На спектральній кривій незаміщеного кумарину спостерігаються два інтенсивних максимуми при 274 нм та 310 нм (Табл. 1). Масрані та співавтори віднесли перший максимум до бензольного поглинання, а другий максимум — до переходу електронів в угрупованні



піронового циклу. Перший максимум дійсно слід віднести до 1L_b -смуги, яка обумовлена $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходами електронів бензольного циклу. Однак із віднесенням другого максимуму до переходу електронів в угрупованні

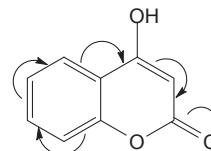


неможливо погодитися, оскільки, за даними Л. Фізер та М. Фізер [6], родоначальний хромофор енону



проявляє максимум тільки у короткохвильовій частині спектра при 215 нм. Отже, максимум при 310 нм може бути обумовлений тільки р- π -супряженням бензольного циклу із зазначеним еноном (Рис. 2).

Рисунок 2

 $\lambda_{\text{макс}}$ 310 нм (95 % етанол)

Введення оксигрупи в положення 4-ї молекули кумарину призводить до розділення $\lambda_{\text{макс}}$ при 274 нм і гіпсохромного зміщення другого максимуму на 6 нм (Табл. 1). Окрім того, на спектральній смугі 4-оксикумарину спостерігається вигин при ~ 315 нм.

Аценокумарол може бути віднесений до найпростіших похідних 4-оксикумарину, оскільки бензольний цикл у боковому ланцюзі та карбонільна група не супряжені з кумариновим ядром. Унаслідок цього УФ-спектри аценокумаролу мало чим відрізняються від таких самих спектрів незаміщеного 4-оксикумарину. І дійсно, місцезнаходження максимумів обох речовин відрізняється лише не 2-4 нм в етанолі, а спектри аценокумаролу в хлороформі, циклогексані та 0.1 М розчині хлористоводневої кислоти мало чим відрізняються від спектрів в етанолі (Табл. 1).

Слід зазначити, що в молекулі аценокумаролу знаходиться нітрогрупа, яка пов'язана з бензольним циклом. Як відомо, нітробензол [7] характеризується інтенсивним максимумом при 251 нм. Однак цей максимум не проявляється в УФ-спектрах аценокумаролу, очевидно внаслідок наявності розташованої поряд більш інтенсивної смуги в межах 273-288 нм. Ця ділянка, як і у випадку 4-оксикумарину, відповідає 1L_b -смугі. Доказом цього є коливальна структура смуги у діоксановому розчині з $\lambda_{\text{макс}}$ при 273, 282 і 295 нм. Друга смуга аценокумаролу, що обумовлена р- π -супряженням бензольного та піронового-2 циклів, характеризується максимумом у межах 302-309 нм. Слід зазначити, що у лужних розчинниках відбувається розщеплення піронового циклу, в результаті чого у зазначених розчинниках спостерігається лише один максимум (Табл. 1).

Розвиток теоретичної фармацевтичної хімії ставить перед молекулярною спектроскопією завдання з обчислення електронного стану, пе-

редбачення та пояснення різних властивостей складних органічних сполук. Для досягнення зазначених цілей найчастіше використовують напівемпіричний метод Парізера — Парра — Попла, застосування якого скорочується зі збільшенням складності сполук, що пояснюється недоліками самого методу [8].

У той самий час для вивчення хімічних реагентів, барвників та інших хімічних сполук в останні роки почали широко застосовувати основні оптичні характеристики електронних спектрів поглинання (ОХЕСП): хвильове число в максимумі поглинання $\nu_{\text{макс}}$, см^{-1} ; напівширину смуги поглинання $\Delta\nu_{1/2}$, см^{-1} ; інтегральну

інтенсивність смуги поглинання A , $\text{л/моль} \times \text{см}^2$; молярний коефіцієнт світлопоглинання $\epsilon_{\text{макс}}$; силу осцилятора електронного переходу f ; матричний елемент переходу електронів $M_{\text{ік}}$. Зазначені ОХЕСП можуть бути розраховані без використання комп'ютера, що робить їх доступними в практиці дослідницьких лабораторій будь-якої комплектації [9].

Впровадження зазначених ОХЕСП до наукових досліджень є доцільним, оскільки зазначені константи можуть бути використані для ідентифікації близьких за своєю структурою фармацевтичних субстанцій, дослідження електронної структури молекул, а також як

Таблиця 1

Спектральна характеристика кумарину, 4-оксикумарину і аценокумаролу, $C = 1 \text{ мг\%}$

Ч. ч.	Сполука	Розчинник	λ , нм	ϵ	$\lg \epsilon$	Перехід електронів
1	кумарин	95% етанол	274 310	13800 6920	4.14 3.84	1L_b -смуга р-п-супряження
2	4-оксикумарин	95% етанол	269 280 304 315	12880 14790 11220 вигин	4.11 4.17 4.05	1L_b -смуга 1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
3	аценокумарол	вода	288 302 340	20420 20890 вигин	4.31 4.32	1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
4	аценокумарол	0.1 М NaOH	235 302 340	вигин 21380 вигин	4.33	1L_a -смуга р-п-супряження р-п-супряження
5	аценокумарол	0.1 М HCl	230 286 304 330	вигин 22390 19950 вигин	4.35 4.30	1L_a -смуга 1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
6	аценокумарол	ацетат. буф. розчин рН = 3.85	284 304 340	20890 19500 вигин	4.32 4.29	1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
7	аценокумарол	конц. H_2SO_4	236-237 306-309 340	16220 23440 вигин	4.21 4.37	1L_a -смуга р-п-супряження р-п-супряження
8	аценокумарол	95% етанол	245 284 306 340	вигин 18620 18200 вигин	4.27 4.26	1L_a -смуга 1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
9	аценокумарол	циклогексан	270 281 303-307 320	10720 11220 6120 вигин	4.03 4.05 3.79	1L_b -смуга 1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
10	аценокумарол	25% NaOH	240 301-303 340	вигин 26300 вигин	4.42	1L_a -смуга р-п-супряження р-п-супряження
11	аценокумарол	діоксан	273 295 306 320	19500 15850 15850 вигин	4.29 4.20 4.20	1L_b -смуга 1L_b -смуга р-п-супряження р-п-супряження
12	аценокумарол	хлороформ	273 296 304-306	вигин 16980 16600	4.23 4.22	1L_b -смуга 1L_b -смуга р-п-супряження

важливі параметри для встановлення зв'язку «структура — дія» [10].

Для дослідження ООХЕСП спектрів поглинання аценокумаролу в 95% етанолі нами були розраховані зазначені величини за методикою Т. В. Сайдова і О. В. Свердлової [11]. Одержані результати наведені в Табл. 2.

Незаміщений кумарин (Табл. 1) характеризується двома смугами поглинання: однією — з високою інтенсивністю ($\epsilon_{\text{макс}} = 25\,240$), іншою — середньої інтенсивності ($\epsilon_{\text{макс}} = 2420$).

При переході від незаміщеного кумарину до аценокумаролу спостерігається звуження межі, в якій знаходяться величини $\epsilon_{\text{макс}}$. Для досліджуваної сполуки — друга смуга поглинання з $\epsilon_{\text{макс}} = 18\,620$ при 284 нм і третя смуга з $\epsilon_{\text{макс}} = 18\,200$ при 306 нм. Отже, високі значення $\epsilon_{\text{макс}}$ виключають $n \rightarrow \pi^*$ - перехід як причину виникнення смуг поглинання речовини, що вивчається. Величина $\Delta\nu_{1/2}$ коливається в межах від 4690 ($\lambda_{\text{макс}} = 306$ нм) до 6190 ($\lambda_{\text{макс}} = 284$ нм).

Величини інтегральної інтенсивності (A) смуг поглинання аценокумаролу коливаються в межах від 0.90×10^8 (друга смуга поглинання) до 1.25×10^8 (перша смуга поглинання), тобто вони вказують на середню або високу вірогідність переходів, які обумовлюють виникнення смуг поглинання.

Слід відзначити, що для смуги поглинання аценокумаролу при 306 нм (95% етанол) величина A є доволі високою. Саме ця смуга, як позначено в Табл. 1, виникає в результаті р- π -супряження в хромофорі, який являє собою конденсовану сполуку, а саме 1,2-бензопірон. Найвність цього хромофора та гідроксильної групи в положенні 4-ї молекули кумарину можна вважати фармакофором або частиною фармакофора.

Величини сили осцилятора електронних переходів f коливаються в межах від 0.96 до 1.34, а їх десятковий логарифм lg f — у межах від -0.018 до +0.127, що згідно зі шкалою сил осциляторів, за даними Kasha, Rawls [12], відповідає дозволеним переходам електронів.

Величини матричного елемента переходу електронів $M_{\text{ік}}$ для аценокумаролу є високими і коливаються в межах від 4.56×10^{-18} (друга смуга поглинання) до 5.20×10^{-18} (перша смуга поглинання). Ці константи вказують на високу

реакційну здатність хромофора, який обумовлює виникнення смуг поглинання, які спостерігаються (Табл. 2).

Висновки

Вивчено УФ-спектри поглинання аценокумаролу в десяти різних розчинниках, а також спектри двох модельних сполук: α -пірону та 1,2-бензопірону.

На спектральній кривій аценокумаролу спостерігаються дві смуги поглинання в області 270-288 нм та 302-306 нм. У малополярних розчинниках (циклогексан, діоксан та хлороформ) з'являється коливальна структура в межах 270-296 нм і це свідчить, що вона являє собою 1L_b -смугу, яка батохромно зміщується від мало- до більш полярних розчинників.

Найбільш характерною смугою поглинання аценокумаролу є друга смуга, яка відповідає р- π -супряженню бензольного і піронового циклів.

Встановлено, що величини напівширини $\Delta\nu_{1/2}$ та інтегральної інтенсивності A смуг поглинання, сили осцилятора f та матричного елемента переходу електронів $M_{\text{ік}}$ можуть бути використані як важливі константи для ідентифікації та встановлення поглибленого зв'язку між спектрами і будовою молекули.

Розраховані значення інтегральної інтенсивності A аценокумаролу свідчать про високу вірогідність переходів електронів, сила осцилятора f вказує на дозволений перехід електронів, а константа матричного елемента переходу електронів $M_{\text{ік}}$ надає відомості про високу реакційну здатність хромофора в молекулі аналізованої сполуки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Курс лекцій з клінічної кардіології / За ред. д-ра мед наук, проф. В.И. Целуйко. — Харків: Триф. — 2004. — 576 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — Харьков: Торсинг. — 1998. — Т. 1. — 560 с.; Т. 2. — 592 с.
3. О качественной оценке устойчивости гетероциклических систем в рамках приближенных Гюккеля / Д.А. Бочвар, Н.П. Тамбарян, И.В. Станкевич, А.Л. Чистяков // Журн. физ. химии. — 1958. — Т. 32., Вып. 12. — С. 2797-2802.
4. Дрогвозов С.М., Гудзенко А.П., Бутко Я.А., Дрогвозов В.В. Побочное действие лекарств: учебник-справочник. — Харьков: СИМ, 2010. — 480 с.
5. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. — С. 36-41. — До-

Таблиця 2

Оптичні характеристики електронних спектрів поглинання аценокумаролу (розчинник — 95% етанол, концентрація розчинів — 1 мг%)

$\lambda_{\text{макс}} \text{ нм}$	$\nu_{\text{макс}} \text{ см}^{-1}$	$\epsilon_{\text{макс}} \times 10^4$	$\Delta\nu_{1/2} \text{ см}^{-1}$	$A \times 10^8$	f	$M_{\text{ік}} \times 10^{-18}$
284	35 210	1.88	6190	1.25	1.34	5.20
306	32 680	1.80	4690	0.90	0.96	4.56

- повнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 2008. — С. 50-55.
6. Физер Л., Физер М. Стероиды. — М.: Мир, 1964. — 982 с.
7. Штерн Э., Тиммонс К. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии. — М.: Мир, 1974. — 296 с.
8. Мочалкин В.Н., Боровский Л.А. К исследованию электронных спектров поглощения сложных органических соединений // Теория электронных оболочек атомов и молекул: Докл. междунар. симп. — Вильнюс, 1991. — С. 16-20.
9. Свердлова О.В. Электронные спектры в органической химии. — Л.: Химия, 1985. — 248 с.
10. Сайдов Т.В. Практическое руководство по молекулярной спектроскопии: учебное пособие / Т.В. Сайдов, О.В. Свердлова; отв. ред. Н.Г. Бахшиев; СПб гос. ун-т: Изд-во СПб ун-та, 1995. — 233 с.
11. Сайдов Т.В. Основы молекулярной спектроскопии: Практик. рук-во / Т.В. Сайдов, О.В. Свердлова. — СПб: Профессионал, 2006. — 299 с.
12. Kasha M., Rawls H.R. Correlation of orbital classification of molecular electronic transition with transition mechanism: the aromatic amines // Photochem. and Photobiol. — 1968. — Vol. 7, № 6. — P. 561-569.

УДК 543.42:615.273

Резюме

Гречаная Е. В., Сербин А. Г., Буряк В. П.
Запорожский государственный медицинский университет

Национальный фармацевтический университет

Спектрофотометрический метод исследования аценокумарола

Сердечно-сосудистые заболевания, а именно, системная эмболия и кардиоэмболический инсульт, являются наиболее частой причиной летальности среди людей. В последние годы в кардиологии растет применение пероральных антикоагулянтов, в частности, аценокумарола. Несмотря на применение данного препарата в терапевтической практике, его физико-химические свойства изучены недостаточно.

В ходе исследования нами были изучены УФ-спектры аценокумарола в растворителях различной полярности, установлена природа полос поглощения, обнаружена физиологически активная часть молекулы (фармакофор), а на основании расчета основных оптических характеристик электронных спектров поглощения исследуемого вещества определены разрешенность и вероятность перехода электронов в его молекуле.

Ключевые слова: 4-оксикумарин, аценокумарол, УФ-спектры, фармакофор, переходы электронов.

UDC 543.42:615.273

Summary

Grechana O. V., Serbin A. G., Buriak V. P.
Zaporozhye State Medical University
National University of Pharmacy

The investigation of acenocoumarol by spectrophotometric method

Cardiovascular diseases, namely auricle's fibrillation, are the most frequent source of a system embolism and a cardioemboly stroke. Among 4-oxybenzopyrone's derivatives, which are the doctors prescribed to the patient with the specified etiology of heart diseases and cardiovascular system, is rather often recommended an acenocoumarol. This medicine as anticoagulant has an indirect action and reduces risk of a stroke and its consequences approximately on two thirds.

In recently years the scientists pay appreciable attention to search of new original domestic drugs which can be applied to prevention of a cardiovascular system's embolism of the person. Development of new medicines for researching in cardiology for the purpose of decrease of embolic stroke consequences and following treatment of the residual phenomena of this disease is impossible without detailed and careful studying of UF-ranges of derivatives 4-oxybenzopyrones drugs. Nowadays the possibilities of UF-spectrophotometry allow to establish structure of again synthesized bond, dependence between structure and effect of medicines and to identify the part of a molecule which causes its pharmacological action (pharmakophore). We had been studied UF-ranges of an acenocoumarol in ten solvents, which have various polarity (water; 0.1 M NaOH; 0.1 M HCl; acetate buffered solution with pH 3.85; concentrated H₂SO₄; 95% ethanol; cyclohexane; 25% NaOH; dioxane and chloroform), which helped to establish the nature of absorption bands. Had been discovered the part of a molecule of the studied bond (pharmakophore) which existence cause an pharmacological action. The main optical characteristics of electron's absorption spectrums of acenocoumarol allowed to identify the transition of electrons in a molecule of the studied bond, and to study reactionary ability of the main chromophore.

Keywords: 4-oxycoumarin, acenocoumarol, UV spectra, pharmacophore, electron relocation.

Гречана Олена Володимирівна. К. фарм. н., доцент кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Сербін Анатолій Гаврилович. Д. фарм. н., професор кафедри медичної ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Буряк Валерій Прокопович. Д. фарм. н., професор кафедри токсикологічної і неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

Аналітичний огляд

УДК 615.322:615.072:615.244

Георгиевский В. П., Зинченко А. А, Куликов А. Ю., Литвиненко В. И., Колисник А. В., Попова Н. В., Бобрицкая Л. А.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»

Национальный фармацевтический университет

К вопросу о стандартизации лекарственного растительного сырья при создании фитопрепаратов. Сообщение 1. Оценка цветков бессмертника песчаного по содержанию биологически активных соединений

Проведен анализ литературных данных и собственных исследований по установлению качественного и количественного состава биологически активных веществ цветков бессмертника песчаного, структуры и биологической активности выделенных соединений, разработке методик, позволяющих оценить по данным результатов хроматографических и оптических методов технологический процесс получения фитопрепаратов от сырья до готовой лекарственной формы.

Проведена оценка существующих методик в соответствии с ГФУ по критериям селективности и правильности.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье, бессмертник песчаный, флавоноиды, фламин, желчегонное действие, изосалипурпозид, ТСХ, ВЭЖХ, стандартизация лекарственного растительного сырья.

Представляется целесообразным оценить существующие методики качественного и количественного контроля биологически активных веществ (БАВ) в сырье *цветки бессмертника песчаного* и фитопрепаратах на его основе на соответствие требованиям Государственной Фармакопеи Украины. Оценка проведена на основе анализа литературных данных и собственных исследований по составу БАВ цветков бессмертника песчаного и их биологической активности.

Материалы и методы

Образцы сырья: цветки бессмертника, заготовленные в регионах Украины в 1980-2015 гг. и представленные из аптечной сети, а также серии препарата «Фламин» производства фармфирм «Здоровье» и «Галичфарм».

Методы: тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), спектрофотометрия (СФ).

Введение

1 января 2016 г. введено в действие 2-е издание Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ). Это знаменательное событие для фармации и медицины Украины. Особо необходимо подчеркнуть, что во 2-м издании ГФУ значительное место отведено монографиям на лекарственное растительное сырье — 238 монографий, из них национальных монографий — 34.

Украина имеет глубокий исторический опыт по сбору, введению в культуру и выращиванию лекарственного растительного сырья (ЛРС), по разработке и производству фитопрепаратов (свыше 200 наименований субстанций и готовых лекарственных форм из ЛРС производится на фармацевтических предприятиях Украины).

Исходя из идеологии, заложенной в проект создания ГФУ, разработка национальных монографий на лекарства, в том числе ЛРС и фитопрепараты, должна осуществляться с привлечением научной общественности и производителей лексредств. В связи с этим мы сочли возможным предложить свое видение относительно методологии проведения исследований и требований к качественным и количественным показателям в монографиях на ЛРС.

Создание фитопрепаратов — настоек, экстрактов, суммарных комплексов или индивидуальных биологически активных веществ, — основываются на результатах исследований качественного состава, выделения и установлении структуры, оценке биологической активности выделенных веществ, оценке влияния растворителя на полноту извлечения БАВ и их возможных превращений при экстракции.

Располагая результатами отмеченных исследований, можно создать оптимальную технологию экстрагирования, установить крите-

рии, по которым стандартизировать препарат и отнести его к определенной фармакотерапевтической группе с выбором оптимальной лекарственной формы.

Такие этапы разработки и стандартизации препаратов, содержащих полифенольные соединения, были предложены, начиная с 40-х годов прошлого столетия, школой харьковских фитохимиков, фармакологов и аналитиков при создании препаратов из бессмертника песчаного, солодки, крушины ломкой, пижмы, каштана конского, скумпии и скмаха, ландыша и др. лекарственных растений [1-5].

Проверка этого алгоритма по оценке качества цветков бессмертника песчаного, полученного из него препарата «Фламин» и его лекарственных форм — таблеток и гранул, как желчегонных лекарственных средств проходила в соавторстве со школой д. х. н., проф. Н. А. Тюкавкина [6-14].

Однако, в связи со стремительным развитием физико-химических методов анализа (ТСХ, ВЭЖХ и пр.) появился целый ряд сообщений, посвященных качественной и количественной оценке содержания БАВ в сырье и препаратах бессмертника песчаного. В этой связи мы сочли необходимым провести анализ литературных источников последних лет, сопоставив литературные данные с результатами наших исследований по предложенному нами алгоритму:

1) выделение и установление структуры БАВ;

2) оценка биологической активности как индивидуальных соединений, так и суммарных препаратов, с целью установления веществ, отвечающих за фармакологический эффект;

3) выбор растворителей для экстракции и оценка их влияния на возможность химический превращений в ходе технологического процесса;

4) разработка методик качественного и количественного анализа, позволяющих контролировать БАВ, отвечающие за фармакологический эффект как сырья, так и готовых лекарственных форм;

5) проверка методик на предприятиях, заготавливающих ЛРС и перерабатывающих ЛРС при производстве фитопрепаратов;

6) предоставление методик для включения в национальные монографии ГФУ.

Распространение, заготовка и переработка ЛРС цветков бессмертника

Бессмертник песчаный (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench. (цмин песчаный)) — дикорастущее лекарственное растение, распространенное в степных и лесостепных рай-

онах Украины, России, Северного Кавказа. Для промышленной переработки используют цмин песчаный, произрастающий в южных и центральных областях Украины; урожайность свежих цветков дикорастущего бессмертника составляет от 0.1 до 1.4 т/га [15, 16]. Цветки цмина заготавливают в Украине для реализации в аптечной сети и получения сборов, отваров, настоек. На предприятиях фармацевтической отрасли изготавливают желчегонные сборы, экстракт бессмертника сухой, препарат «Фламин» и его лекарственные формы, которые назначают в качестве желчегонных [17] и гепатозащитных средств, а также препарат из аренарии в виде мази как противовирусное средство [17].

Биологически активные вещества цветков бессмертника

Установлено, что биологически активными веществами цветков и препаратов бессмертника являются различные классы флавоноидов, гидроксикоричные кислоты, кумарины, производные фталиевой кислоты, полисахариды, а также вещества различных групп: дитерпеновые спирты, стерины, жирные кислоты, аминокислоты, инозин, неидентифицированные фенольные пигменты, летучие вещества [4, 5, 18-20, 22].

Среди 20 фенольных соединений бессмертника доминирующим является халкон-гликозид изосалипурпозид или изогелихризин (6-О-β-D-глюкопиранозид-2,4,6,4'-тетрагидроксихалкон); из группы флаванов выделены: нарингенин, салипурпозид или гелихризин (5-О-β-D-глюкопиранозид нарингенина), 7-О-β-D-глюкопиранозид нарингенина (пурин); флавоны: апигенин (5,7,4'-тригидроксифлавонол), лютеолин (5,7,3',4'-тетрагидроксифлавонол) и их 7-О-β-D-глюкозиды; флавонолы: 3,5-дигидрокси, 6,7,8-триметоксифлавонол, кемпферол (5,7,4'-тригидроксифлавонол), кверцетин (5,7,3',4'-тетрагидроксифлавонол) и их 3-О-глюкозиды.

Идентифицированы кумарины: умбеллиферон, скополетин, эскулетин; гидроксикоричные кислоты: кофейная, феруловая и др.; фталиды: 5,7-дигидроксифталид, 5-гидрокси-7-метоксифталид, 7-гидрокси-5-метоксифталид и 7-О-глюкозид последнего, а также α-пирановые производные (аренол и гомоаренол), обуславливающие желтую окраску листочков обертки корзинок цветков [18-22].

Биологическая активность цветков бессмертника и препаратов из него

Сведения народной медицины по желчегонной активности бессмертника песчаного были впервые перепроверены и подтвержде-

дены Петровой М. К. с соавт. [23]. Клинические исследования фармакологического действия цветков бессмертника были выполнены в 1946 г. [24-30]. В дальнейшем биологическая активность растения, связанная с флавоноидами, детально изучена в лаборатории фармакологии (проф. Я. И. Хаджай) [31-34] Харьковского химико-фармацевтического института (ныне ГНЦЛС) в 1947-1978 гг., в результате чего совместно с лабораториями фитохимии (проф. Д. Г. Колесников), аналитической химии (проф. Болотников С. М.) был создан препарат «Фламин» и его таблетированная лекарственная форма (лаборатория готовых лекарственных форм (к. фарм. н. Носовицкая С. А.) для лечения хронических форм холецистита, гепатохолецистита, болезней желчного пузыря и желчных путей [1]. «Фламин» был охарактеризован как флавоноидный препарат, однако структура БАВ была установлена после глубоких исследований по разделению флавоноидов методом колоночной хроматографии с использованием силикагеля и полиамидного сорбента сотрудниками лаборатории технологии лекарственных средств (Литвиненко В. И., Сало В. П., Спиридоновым В. Н, Прокопенко А. П.); биологическая активность изучена сотрудниками Оболенцевой Г. В., Хаджай Л. И., аналитические характеристики — Георгиевским В. П., Литвиненко А. Л.). Результаты перечисленных исследований были защищены авторскими свидетельствами СССР № 309709 (1971 г.) и № 587940 (1977 г.) и внедрены совместно с работниками ЦЗЛ на Львовском ХФЗ и Харьковском ХФЗ «Здоровье трудящихся».

При этом Г. В. Оболенцевой было показано, что за желчегонный и спазмолитический эффект отвечает халконовый гликозид изогелихризин и сумма флавоноидов и нарингинин-5-гликозидов, а наиболее активное соединение — изогелихризин (изосалипурпозид), который по активности превышает сумму флавоноидных гликозидов и самого фламина в два раза [38-39].

В дальнейшем работах проф. Дроговоз С. М. с сотрудниками эти данные были подтверждены [40].

Контроль качества сырья в фармакопеях

Качество сырья и препаратов бессмертника регламентируют Государственная Фармакопея СССР XI изд. (ГФ XI), ГФ РФ XIII изд., Фармакопеи Польши, Франции, Германии, Швейцарии и др.

По предложению сотрудников ГНЦЛС в фармакопейную статью на цветки бессмертника песчаного в ГФ XI был включен такой показа-

тель качества, как содержание суммы фенольных соединений — не менее 6 %, в пересчете на ГСО изосалипурпозид (ВФС 42-36-72).

Государственная Фармакопея Республики Казахстан (2014 г.) предусматривает количественное определение флавоноидов после экстракции этанолом с 1 % хлористоводородной кислоты, с последующей количественной оценкой комплекса флавоноидных агликонов с $AlCl_3$ при 430 нм в пересчете на кверцетин и установлением их суммы на уровне «не менее 0.5 %».

Флавоноиды цветков бессмертника в ГФ Республики Беларусь определяют в пересчете на кверцетин или рутин ГСО в форме комплексов с алюминия хлоридом. При этом содержание флавоноидов в сырье определяют на уровне ниже 2.5 %. Требования к ЛРС бессмертника песчаного в Фармакопеях Германии и Польши предусматривают количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин (не менее 15 %) и гиперозид (не менее 0.6 %). В ГФ РФ XIII изд. (2015) включено определение флавоноидов в сырье цмина (не менее 6 %) спектрофотометрически в пересчете на изосалипурпозид, в виде комплекса с алюминия хлоридом при максимуме поглощения 418 нм.

В ГФУ 2.1 для ЛРС бессмертника песчаного нормируется содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид (не менее 0.8 %), спектрофотометрически при длине волны 425 нм.

Исследование хроматографической подвижности БАВ цветков бессмертника с целью определения качественного состава ЛРС и фитопрепаратов (методы ТСХ и ВЭЖХ)

Наиболее перспективные методы для стандартизации БАВ — это ТСХ и ВЭЖХ, позволяющие одновременно провести качественный и количественный анализ лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов.

Исследование хроматографической подвижности флавоноидов (5 флавонолов и 18 флавонол-гликозидов, 9 флавонов и 5 флавоно-гликозидов, 3 халкона, 8 халкон-гликозидов, 1 флавоно и 4 флавоно-гликозида) было проведено сотрудниками отдела стандартизации и метрологии ГНЦЛС Литвиненко А. Л., Пиотровской А. Г., Георгиевским В. П. [4-6] на пластинах «Силуфол» фирмы «Кавальер» с применением 5-и систем растворителей:

- 1) 15% раствор уксусной кислоты;
- 2) бензол — уксусная кислота (5:2);
- 3) бензол — метиловый спирт (8:2);
- 4) бензол — метиловый спирт — ацетон (8:2:10);

5) бензол — метиловый спирт — диметилформамид (8:2:10).

Условия проведения анализа

Камеры основного комплекта для ТСХ помещали в термостат, в котором температурный режим поддерживали с точностью до ± 1 °С. Температура хроматографирования — 20 °С. На хроматограмму наносили спиртовые растворы флавоноидов (концентрация 0.001 моль/л) в количестве 0.01 мл при помощи микропипетки с ценой деления 0.005 мл таким образом, чтобы диаметр стартовых пятен не превышал 2 мм. Расстояние между линией старта и краем пластины — 3 см, длина пробега фронта растворителя — 12 см. Реактив проявления 5 % спиртовый раствор гидроксида натрия. Просмотр в УФ-свете при 250 нм и 360 нм.

Оценивая качество разделения флавоноидов, следует указать, что полноту разделения всех 57 соединений не обеспечивает ни одна из систем. В тоже время наиболее полное разделение агликонов происходит в системах 2, 3 и 4, при этом во второй системе лучше разделяются флавоны, а в третьей — флавонолы, в четвертой — флавононы, в первой системе — халконы, а их гликозиды — в четвертой системе.

Варьируя данными системами с использованием двумерной хроматографии, можно добиться полноты разделения отдельных классов соединений, а также разделения флавоноидов внутри каждого из классов. Так, например, хроматографируя в системе 2 в направлении 1, можно отделить гликозиды халконов, флавонов, флавононов, флавонолов, а затем, хроматографируя во втором направлении в системе 3 или 4, разделить агликоны этих групп. Как показали исследования спиртовых экстрактов бессмертника, наиболее подходящей системой

позволяющей осуществить идентификацию флавоноидов, были системы 2, 3 и 4.

Разработка методик качественного и количественного определения флавоноидов ЛРС и суммарных фитохимических препаратов цветков бессмертника хроматофотометрическим методом

По данным фармакологических исследований, основными биологически активными соединениями, обуславливающими желчегонное действие цветков бессмертника, экстракта бессмертника и суммарного препарата «Фламин», является изосалипурпозид и сумма (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов [38-39]. Поэтому стандартизацию ЛРС и указанных препаратов проводили как по указанным соединениям, так и по суммарному содержанию флавоноидных соединений.

Изучение хроматограмм, полученных в двух системах растворителей, как по данным величинам hR_{st} (1), так и по цвету пятен, позволило установить, что наряду с изосалипурпозидом и суммой (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов суммарные параметры имеют от 4 до 6 пятен флавоноидной природы, из которых наиболее интенсивны пятна 1 и 2 (Табл. 1). Остальные пятна имеют слабую желтую окраску. По цвету пятен и по величине hR_{st} было установлено, что одно пятно — изосалипурпозид, второе, очевидно, принадлежит сумме (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов и 3-5 агликонам флавоноидов (Табл. 1).

$$hR_{st} = hR_{fx} - hR_{st}, \quad (1)$$

где hR_{fx} — величина hR_s исследуемого вещества,

hR_{st} — величина соединения стандарта, которым для флавоноидов взят флаван.

Таблица 1

Результаты идентификации флавоноидных соединений цветков бессмертника

Номер пятна на хроматограмме	Цвет пятна				Величины hR_{st} в системах		Заключение
	в видимом свете		в УФ-свете		3	4	
	до обработки 0.5 М раствором едкого натра	после обработки 0.5 М раствором едкого натра	до обработки 0.5 М раствором едкого натра	после обработки 0.5 М раствором едкого натра			
1	Желтый	Ярко-желтый	Бурый	Ярко-желтый	-50	-40	Изосалипурпозид
2	Желтый	Ярко-желтый	Бурый	Ярко-желтый	-40	-30	(+) и (-) нарингенин-5-гликозиды
3	Слабо-желтый	Слабо-желтый	Слабо-желтоватый	Желто-зеленый	-32	-22	Лютеолин
4	Слабо-желтый	Желтый	Темно-коричневый	Коричневый	-30	-6	Апигенин
5	Слабо-желтый	Желтый	Бурый	Ярко-желтый	-45	-9	Кемпферол

Четкое разделение халконовых гликозидов и остальных флавоноидов позволило провести определение изосалипурпозидов и суммы (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов хромато-спектрофотометрическим методом по следующей методике.

Около 0.024 г (точная навеска) фламина или около 0.05 г (точная навеска) экстракта бессмертника растворяют в 95 % этиловом спирте в мерной колбе объемом 50 мл и доводят объем раствора этим же растворителем до метки.

На хроматографическую пластинку «Силуфол» наносят 0.1 мл (100 мкг) препарата и хроматографируют в системе растворителей бензол – метиловый спирт – ацетон (8:2:10). Когда фронт растворителей поднимется до края пластинки, ее вынимают из камеры и сушат на воздухе. Просматривают в УФ-свете, маркируют зоны пятен 1 и 2. Первое пятно количественно переносят с помощью специального приспособления 95 % спиртом в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора этим же растворителем до метки. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 370 нм.

Второе пятно переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл при помощи 95 % этилового спирта и измеряют оптическую плотность при длине волны 275 нм.

В качестве раствора сравнения использовали элюат из равного по площади пятна зоны чистого сорбента.

Содержание изосалипурпозидов и суммы (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов определяли по калибровочным графикам, построенным по изосалипурпозиду-стандарту и сумме (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов. При построении калибровочных графиков в условиях опыта учтены потери за счет неполной десорбции веществ с хроматограммы.

Зависимость оптической плотности от концентрации для изосалипурпозидов и суммы (+) и (-) нарингенин-5-гликозидов лежит в пределах от 21 мкг до 20 мкг в 1 мл 95 % спирта.

Полученные результаты анализа показали наличие изосалипурпозидов в препарате «Фламин» в количестве от 37.2 % до 46.75 %, а нарингенин-5-О-гликозида — от 22.39 % до 28.36 %. Содержание этих же соединений в экстракте бессмертника составляет 2.40 – 4.26 % и 1.13 – 2.4 % соответственно.

Таким образом, содержание основных биологически активных веществ, обуславливающих действие препарата «Фламин», составляет более 55 % от взятой навески вещества. Если учесть, что «Фламин» — это суммарный препа-

рат, в состав которого могут входить и другие флавоноидные соединения, содержащиеся в цветках бессмертника, то данное содержание двух основных соединений следует признать достаточно большим.

Количественное определение флавоноидов в анализируемых образцах сырья при помощи указанной хромато-спектрофотометрической методики показало, что содержание изосалипурпозидов находится в пределах 2.71 – 4.22 %, а суммы (+) и (-) нарингенин гликозидов — в пределах 1.9 – 2.7 %.

Сопутствующие флавоноидные соединения — лютеолин, апигенин, кемпферол, наряду с присущим им слабым желчегонным действием, одновременно являются проводниками этого действия. Поэтому стандартизация «Фламина», как и сухого экстракта бессмертника, проведена по сумме всех флавоноидных соединений спектрофотометрическим методом.

Исследование спектров абсорбции изосалипурпозидов, (+) и (-) нарингенин-5-О-гликозидов, а также лютеолина, апигенина и кемпферола, показало отсутствие общего максимума поглощения.

Было показано, что изосалипурпозид и флаваноновые гликозиды (+) и (-) нарингенин-5-О-гликозидов имеют изобестическую точку при длине волны 315 нм. Удельный показатель изосалипурпозидов при длине волны 315 нм, как и нарингенин-5-О-гликозида, равен (425 ± 5) нм.

Лютеолин, апигенин и кемпферол имеют при данной длине волны $E_{1cm}^{1\%}$ 386, 608 и 327 соответственно, что может сказаться на объективности результатов при количественном определении, но влияние это незначительно по следующим причинам. Хроматографический анализ показал наличие данных веществ при хроматографировании 100 мкг препарата в количестве 2-3 мкг каждого из веществ. Данное заключение основано на минимальном количестве обнаруживаемого флавоноида в пределах 1 мкг. При нанесении 50 мкг препарата обнаружение этих агликонов флавоноидов затруднено, а при 25 мкг фламина пятна апигенина, лютеолина и кемпферола исчезают. Таким образом, если допустить, что агликоны в сумме от взятой навески составят 6-10 %, а также учесть, что данные вещества входят в фитохимический комплекс, обусловленный составом флавоноидов цветков бессмертника, то стандартизацию «Фламина» следует проводить по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на основное действующее вещество — изосалипурпозид.

Выбор изосалипурпозида в качестве стандарта обусловлен не только его максимальным содержанием в препарате, но также устойчивостью при хранении. Характеристика данного стандарта проведена согласно требованиям, предъявляемым в ВФС 42-36-72.

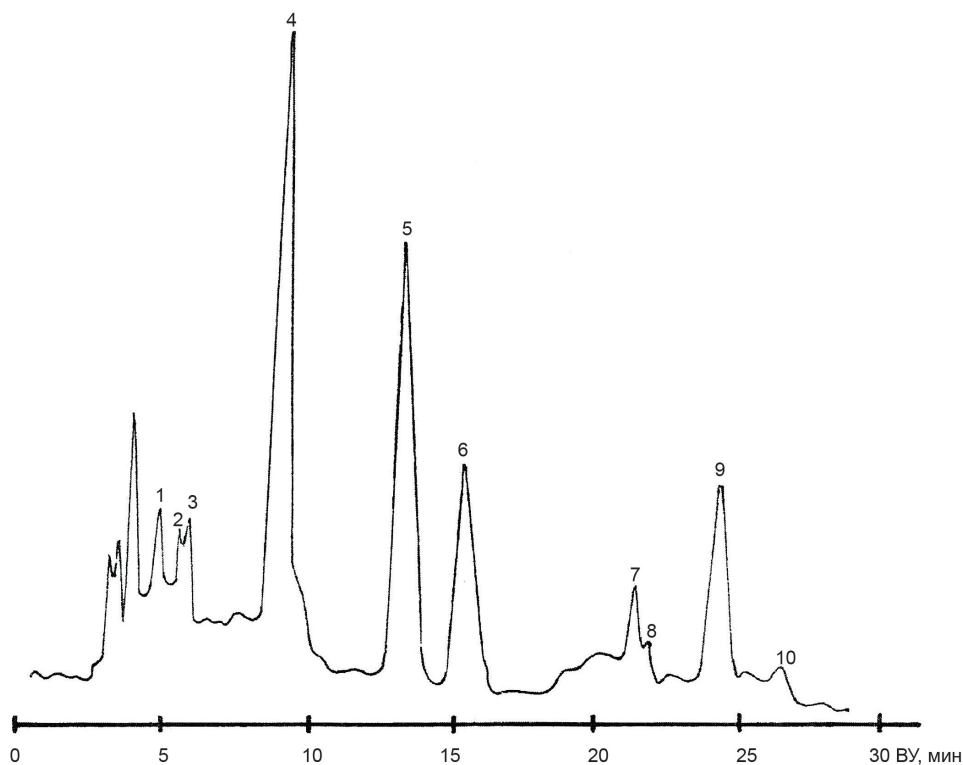
ВЭЖХ в анализе флавоноидов цветков бессмертника песчаного и препарата «Фламин»

В совместных исследованиях, проведенных сотрудниками школы проф. Н. А. Тюкавкиной и ВНИХТЛС в 1986-1988 гг., было показано, что наиболее полные результаты по качественному и количественному содержанию флавоноидов в цветках бессмертника и препарате «Фламин» могут быть получены с использованием метода ВЭЖХ [9-14].

Исследование проводили на жидкостном хроматографе Spectra Physisc 8700. Использованы аналитические колонки 250 × 4.6 мм, заполненные обращенно-фазным сорбентом Nucleosil или Lichrosorb (силикагель с привитыми окта- и октадецилсилановыми группами) с размером частиц 5 мкм и 10 мкм. Наилучшее разделение было достигнуто на колонке Nucleosil 10 C₁₈.

Для подбора подвижной фазы были опробованы различные растворители (метанол, этанол, пропанол-2, ацетонитрил, тетрагидрофуран, диоксан, вода, уксусная кислота и др.) и их смеси. Оптимальным для разделения ЛРС и фламина на компоненты оказался ступенчатый режим с использованием двух элюентных систем: система для разделения гликозидов вода — ацетонитрил — уксусная кислота — тетрагидрофуран (71.5:20:5:3.5), система для разделения

Рисунок 1



Хроматограмма этанольного экстракта цветков бессмертника песчаного, полученная в условиях [9]

Примечания.

- 1 — биозид или дигликозид флавоновой природы;
- 2 и 3 — стереоизомеры нарингенин-5-глюкозида;
- 4 — кемпферол-3-глюкозид;
- 5 — изосалипурпозид;
- 6 — ВС;
- 7 — лютеолин;
- 8 — кверцетин;
- 9 — нарингенин;
- 10 — апигенин.

Сорбент — Nucleosil 10 C₁₈; подвижная фаза: фаза А — вода — ацетонитрил — ТГФ — уксусная кислота (71.5:20:5:3.5) (об.); фаза Б — вода — ацетонитрил — уксусная кислота (12:7:1) (об.); профиль элюирования: от 0 до 12.9 мин — фаза А, от 13 до 30 мин — фаза Б; скорость потока элюента — 1 мл/мин; аналитическая длина волны — 315 нм.

агликонов — вода — ацетонитрил — уксусная кислота (12:7:1). Скорость потока элюента — 1 мл/мин.

Для обнаружения компонентов применялся ультрафиолетовый детектор с длиной волны детектирования 315 нм. Идентификацию отдельных компонентов осуществляли путем сравнения их времен удерживания с таковыми для индивидуальных веществ, сравнением УФ-спектров, а также по увеличению площадей их хроматографических пиков при добавлении аутентичных соединений. Типичные хроматограммы гликозидов и агликонов цветков бессмертника песчаного и фламина приведены на Рис. 1 и 2. В подобранных условиях флавоноиды проявляются в виде двух пиков диастереомеров.

Количественное содержание компонентов определяли методом внутреннего стандарта. Из большого числа опробованных соединений выбор остановили на салициловой кислоте, по-

скольку она выходит в виде индивидуального пика в интервале между гликозидами и агликонами. Количество каждого компонента определяли по калибровочному графику, построенному в виде зависимости отношения площадей пиков компонента и внутреннего стандарта от концентрации индивидуального образца компонента. Площади пиков на хроматограммах и времена удерживания измеряли с помощью интегратора SP 4100.

Суммарное содержание флавоноидных компонентов в анализируемой партии сырья, в пересчете на навеску воздушно-сухих цветков, составило 8.36 % (Табл. 2). При этом на долю гликозидов приходится 83.61 % от суммарного содержания флавоноидов, на долю агликонов — 16.39 % (Табл. 3, партия IV). Это свидетельствует о протекании процесса циклизации халкона во флавоон в ходе выделения фламина из сырья.

Таблица 2

Содержание флавоноидных компонентов в этанольном экстракте цветков бессмертника песчаного, в процентах от воздушно-сухого сырья

Компонент	Содержание, %
Соединение (1)	1.62
Нарингенин-5-гликозид (молекулярное соединение)	0.95
(-)-2s-Нарингенин-5-гликозид	1.07
Кемпферол-3-гликозид	2.00
Изосалипурпозид	1.35
Лютеолин + кверцетин	0.26
Нарингенин	1.11
Апигенин	x)
Сумма флавоноидов	8.36

Примечание. x) — присутствует в следовых количествах.

Таблица 3

Результаты количественного анализа производственных партий фламина ПКФ «Здоровье»

Компоненты, номер пика (см. Рис. 1)		Количественное содержание, %			
		Номер партии			
		I	II	III	IV
Гликозиды	1	22.5	17.63	21.04	19.74
	2	18.27	10.50	18.72	14.61
	3	23.99	13.58	25.05	17.31
	4	18.18	27.76	15.98	19.65
	5	6.75	14.58	8.49	7.76
	Сумма гликозидов	89.69	84.05	89.27	79.07
	2 + 3	42.26	24.08	43.77	31.92
	3 : 2	1.31	1.29	1.34	1.18
Агликоны	2 + 3 + 5	49.01	38.66	52.26	39.68
	7 : 8	3.01	5.28	2.71	3.69
	9	3.37	4.07	4.36	6.25
	10	0.97	7.353.09	1.52	2.19
	Сумма агликонов	7.35	12.44	8.59	12.09
Сумма флавоноидов		97.04	96.48	97.97	97.16

Методика количественного анализа была применена к объектам технологической схемы получения «Фламина»: сырье, производное фламина и лекформа в виде таблеток и сухого экстракта.

Было установлено достаточное постоянство компонентов состава (Табл. 3). Сумма флавоноидных соединений в анализируемых партиях «Фламина» находится в пределах 90-97 %. Гликозиды во «Флаmine» являются преобладающей группой соединений, их содержание составляет в среднем 85 %, содержание агликонов — около 10 %.

Среди гликозидов на долю халкон-флавононовой пары (изосалипурпозид и стереоизомеры нарингенин-5-глюкозида) приходится более половины от общего содержания гликозидов.

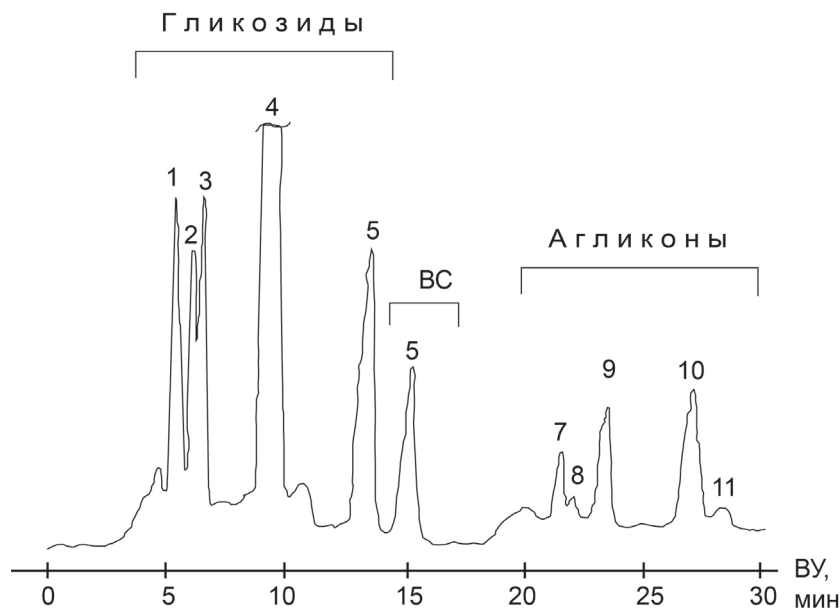
Методом ВЭЖХ впервые было оценено количество каждого из двух стереоизомеров нарингенин-5-глюкозида. Установлено, что соотношение их в различных партиях достаточно постоянно: отношение количества (-)-2s-нарингенин-5-глюкозида к молекулярному

соединению составляет около 1.2-1.3. При сохранении постоянного соотношения двух стереоизомеров между собой их суммарное содержание в различных партиях меняется, но при этом возросшему содержанию нарингенин-5-глюкозида соответствует уменьшенное содержание изосалипурпозид и наоборот. Это обстоятельство непосредственно подтверждает протекание изомеризации изосалипурпозид в ходе технологического процесса, так как суммарное содержание халкон-флавоновой пары соединений в анализируемых партиях фламина является примерно одинаковым и составляет 40-50 %.

Химические превращения фармакологически активных соединений

Изосалипурозид и нарингенин-5-глюкозид, обеспечивающие фармацевтическую активность «Фламина», потенциально способны превращаться друг в друга, что было подтверждено опытами на модельном изосалипурпозиде при нагревании его в щелочной среде. Однако условия и возможность взаимопревращений этих со-

Рисунок 2



Хроматограмма фламина, полученная в условиях [10]

Примечания.

- 1 — дигликозид или биозид флавоновой природы;
- 2 — нарингенин-5-глюкозид (молекулярное соединение);
- 3 — (-)-2s-нарингенин-5-глюкозид;
- 4 — кемпферол-3-глюкозид;
- 5 — изосалипурпозид;
- 6 — салициловая кислота (ВС);
- 7 — лютеолин;
- 8 — кверцетин;
- 9 — варингенин;
- 10 — апигенин;
- 11 — кемпферол.

единений как компонентов «Фламина» не были изучены ни с качественной, ни с количественной стороны. С помощью метода ВЭЖХ нами показано, что в водных растворах «Фламина» при комнатной температуре происходит самопроизвольная циклизация изосалипурпозид в стериоизомер нарингенин-5-глюкозид.

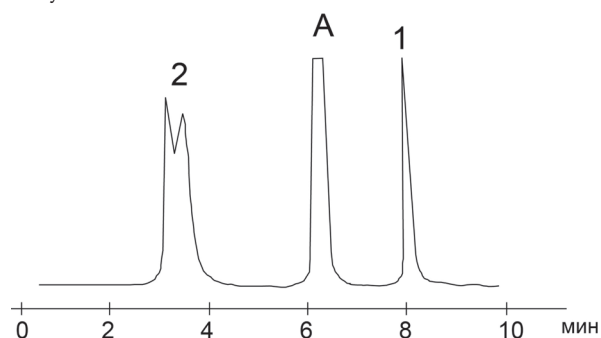
На модельном изосалипурпозиде было изучено влияние различных факторов на ход его изомеризации (состав и природа экстрагента, температура, продолжительность реакции), сопоставимых с технологическими условиями получения «Фламина». В этаноле и водных смесях с содержанием спирта 70 % (об.) и выше изосалипурпозид практически не изомеризуется. При уменьшении доли этанола происходит возрастание степени изомеризации. При нагревании 10 % водно-этанольного раствора изосалипурпозид в течение 1 часа при 80 °С достигается наибольшая степень изомеризации. Это означает, что при существующей технологии получения «Фламина» возможна частичная изомеризация изосалипурпозид в нарингенин-5-глюкозид. Параллельный количественный анализ сырья (цветков бессмертника песчаного) и полученного из него «Фламина» показал, что отношение количества нарингенин-5-глюкозида к количеству изосалипурпозид в сырье составляет 1.5, а во «Фламине» — 4.4. Это может быть объяснено протеканием процесса циклизации халкона во флавонон в ходе выделения фламина из сырья [12, 13].

В процессе разработки способа количественного определения флавоноидных компонентов желчного препарата фламина была исследована халкон-флавоновая изомеризация двух его компонентов в зависимости от различных факторов (температура, растворитель, время реакции) [12] (Рис. 3а).

При изучении этой изомеризации в зависимости от pH среды было обнаружено, что в сильно разбавленных растворах (50 мкг/мл и менее) в универсальном буфере в интервале pH от 4 до 1.5 изомеризация сопровождается побочным процессом, протекающим как при нагревании, так и при комнатной температуре. Результатом этого побочного процесса является

образование соединения А, проявляющегося на хроматограмме между изосалипурпозидом (1) и флаваноном салипурпозидом (2) (Рис. 3). Была установлена зависимость выхода соединения А от концентрации исходного изосалипурпозид, температуры реакции, количества универсального буфера и pH среды, что позволило выявить наиболее оптимальные условия его получения в растворе. Соединение А при нагревании в буфере при различных pH не превращается ни в изосалипурпозид, ни в салипурпозид и, следовательно, не является интермедиатором халкон-флавононовой изомеризации.

Рисунок 3



Состав реакционной смеси, полученной при изомеризации изосалипурпозид

Примечания.

Условия: колонка Nucleosil 10 C₁₈; подвижная фаза: вода — ацетон — уксусная кислота (71.5:20:5:3.5) (об.); скорость потока — 5 мл/мин; аналитическая длина волны — 315 нм, чувствительность — 0.04.

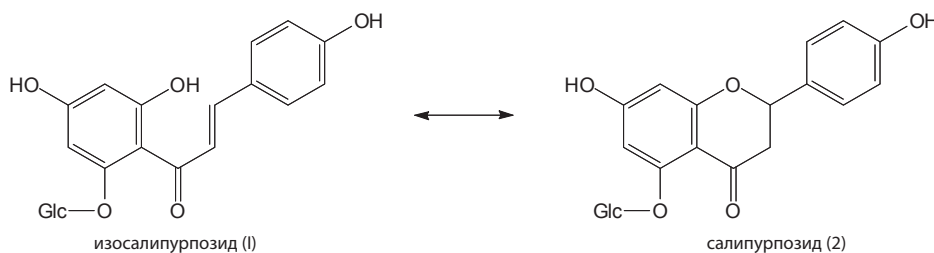
УФ-спектр соединения А в метаноле имеет три полосы, которые путем сравнения можно отнести к полосам переноса заряда в следующих квазиатомных системах: ПЗ_{4-ОН}^{C=O} (λ = 290 нм, ε = 9410), ПЗ_{2'-ОН}^{C=O} (λ = 358 нм, ε = 11530).

На основании проведенного исследования сделано предположение о структуре соединения А, являющегося повторным изомером изосалипурпозид, стабилизированным внутримолекулярной водородной связью.

Определение изосалипурпозид методом ВЭЖХ

Изосалипурпозид, используемый для количественного определения суммы флавоноидов

Рисунок 3а

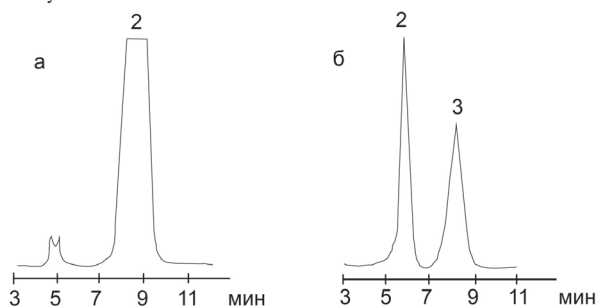


в цветках бессмертника песчаного и в желчегонных препаратах на его основе, может содержать примеси, поскольку его получают из многокомпонентной флавоноидной смеси. Кроме того, за счет халкон-флавоновой изомеризации возможно появление салипурпоза. Разработку методики качественного и количественного определения изосалипурпоза проводили на жидкостном хроматографе Спектра Физикс 8700 с УФ-детектором с переменной длиной волны. В работе использовали аналитическую колонку, заполненную сорбентом Нуклеосил C₁₈ с размером частиц 10 мкм. Четкое разделение пиков в сочетании с непродолжительностью анализа было достигнуто в системе вода – ацетонитрил – уксусная кислота (14:5:1) (об.) Хроматографический контроль чистоты образцов изосалипурпоза проводили при аналитической длине волны 315 нм, а количественный анализ изосалипурпоза — при 360 нм, с использованием в качестве внутреннего стандарта пикриновой кислоты (Рис. 4).

Калибровочный график зависимости отношения площадей пиков изосалипурпоза (s₁) и внутреннего стандарта (s₂) от концентрации изосалипурпоза строили с использованием хроматографически чистого образца. Коэффициенты К и В, рассчитанные по методу наименьших квадратов, равны 0.026 и -0.052, соответственно. Содержание изосалипурпоза (X) в образце, в мкг/мл, рассчитали по формуле:

$$X = \frac{\frac{s_1}{s_2} + 0.052}{0.026}.$$

Рисунок 4



Хроматограммы образцов изосалипурпоза при 315 нм (а) и при 360 нм (б)

Примечания.

- 1 — салипурпозид;
- 2 — изосалипурпозид;
- 3 — пикриновая кислота.

Условия получения хроматограммы (а): скорость потока — 1 мл/мин; чувствительность — 0.04; образец — 1 мкг изосалипурпоза.

Условия получения хроматограммы (б): скорость потока — 1.5 мл/мин; чувствительность — 0.04; образец — по 0.4 мкг изосалипурпоза и пикриновой кислоты.

Относительная ошибка определения при доверительной вероятности 0.95 находится в пределах ± 3.5 %.

Проведенные нами исследования (1987-1995 гг.) показали, что стандартизацию ЛРС и препаратов бессмертника следует проводить по оценке качественного и количественного состава БАВ, отвечающих за биологическую активность, с применением ТСХ и ВЭЖХ, что нашло подтверждение в работах Куркиной А. В. [41-47] и Смалюк О. Г. с соавт. [48].

В работах Куркиной А. В. [41], выполненных в 2011-2013 гг., идентификацию БАВ водно-спиртовых экстрактов (70 % этанолом) цветков бессмертника проводят на пластинах Silufol UV-254, Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ, Сорбфил АФ-А-УФ в системе хлороформ – спирт – вода (26:16:3). При проявлении щелочным раствором диазобензолсульфокислоты и нагревании при 100-105 °С на хроматограммах (Рис. 5) обнаруживается доминирующая зона адсорбции оранжевого цвета, соответствующая маркеру изосалипурпоза с R_f ~ 0.5, зоны салипурпоза с R_f ~ 0.6, нарингенина с R_f ~ 0.8, хлорогеновой кислоты с R_f ~ 0.2.

Рисунок 5

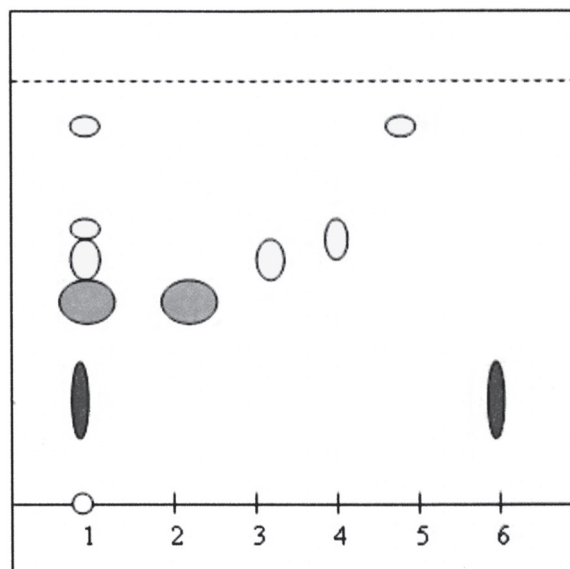


Схема тонкослойной хроматограммы веществ и водно-спиртового извлечения из цветков бессмертника песчаного

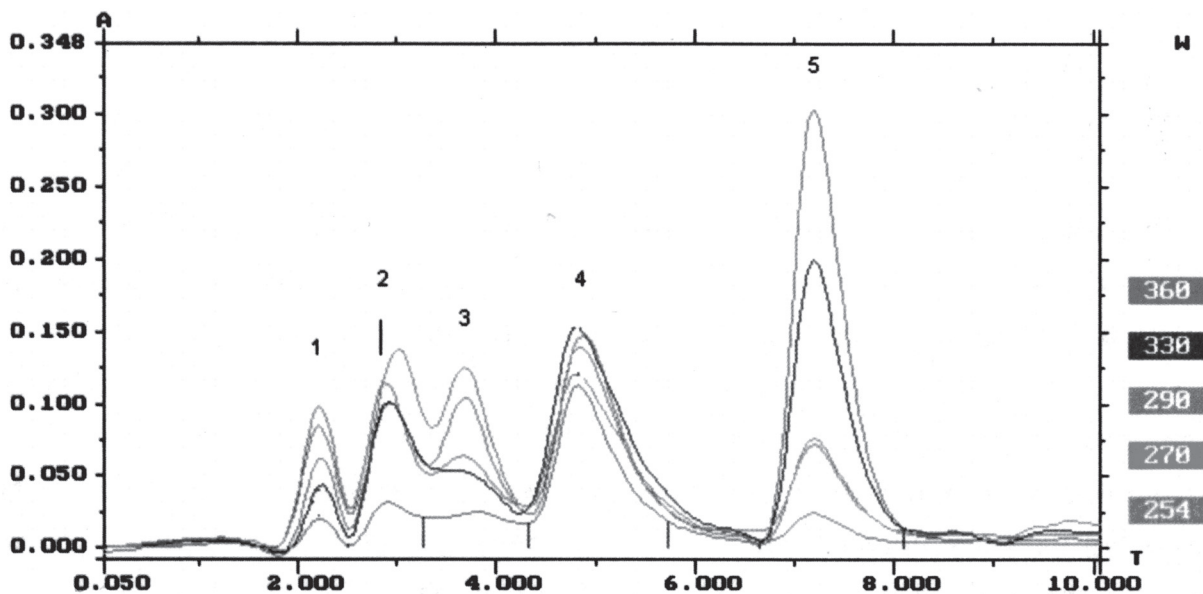
- 1 — водно-спиртовое извлечение из сырья;
- 2 — ГСО изосалипурпоза;
- 3 — салипурпозид;
- 4 — прунин;
- 5 — нарингенин;
- 6 — хлорогеновая кислота.

Параллельно были проведены исследования по идентификации с применением ВЭЖХ [19, 41-47].

В основу методики количественного определения положены следующие оптимальные параметры: экстракция сырья 70 % этиловым спиртом в течение 1 ч в условиях кипения в соотношении 1:50. ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-05» в следующих условиях: колонка КАХ «Диасорб С-16», 80×2 мм, элюентная система: ацетонитрил — вода (25:75) с добавлением 1 % ледяной уксусной кислоты, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем вводимой пробы —

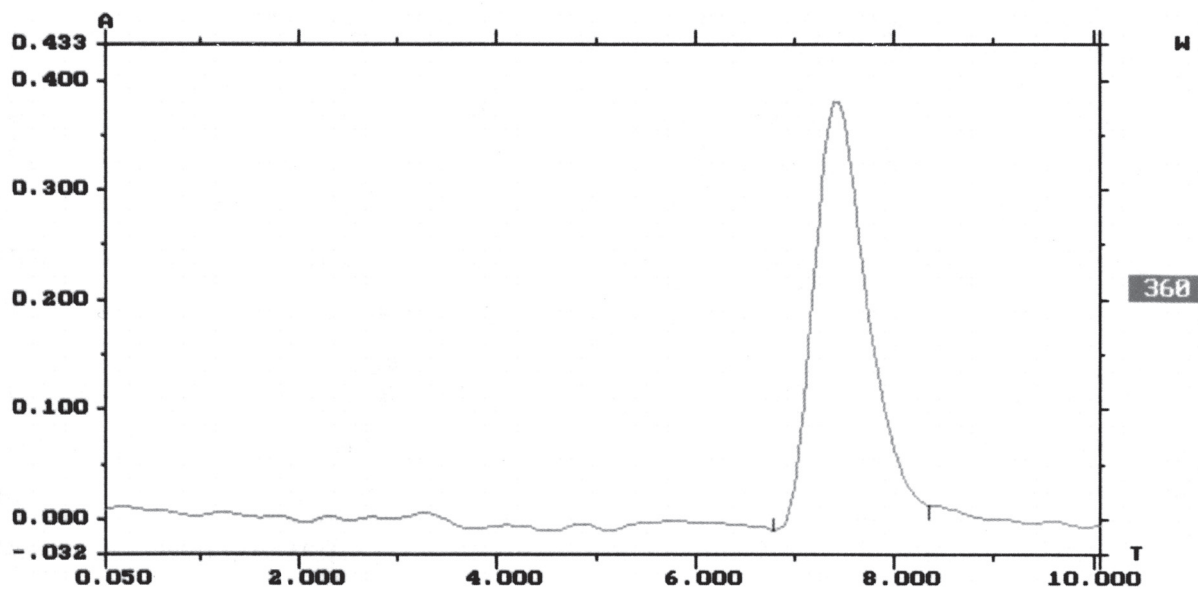
5 мкл. Детектирование веществ осуществляли при пяти длинах волн — 254, 270, 290, 330 и 360 нм. Выбор длин волн обусловлен тем обстоятельством, что исследуемые вещества имеют максимумы поглощения при 372 нм (изосалипурпозид), 284 нм (салипурпозид), 256 нм и 292 нм (5,7-дигидроксифталид, 5-метокси-7-гидроксифталид), 330 нм (гидроксикоричные кислоты). Опорная и аналитическая длина волны при разметке пиков — 360 нм, так как целевым анализируемым веществом является

Рисунок 6



ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из цветков бессмертника песчаного (номера пиков веществ соответствуют таковым в Табл. 4)

Рисунок 7



ВЭЖХ-хроматограмма изосалипурпозиды

изосалипурпозид, имеющий максимум поглощения при 372 нм. Сравнение значений времени удерживания пиков веществ (пики 1-5) на ВЭЖХ-хроматограмме извлечения из цветков бессмертника песчаного (Рис. 6) и времени удерживания пиков индивидуальных веществ (Табл. 4 и Рис. 7) позволило идентифицировать четыре соединения (I-IV), среди которых доминирующим является изосалипурпозид (I).

По данной методике проанализирован ряд партий цветков бессмертника и определено, что содержание изосалипурпозидов варьируется от 1.56 % до 1.78 %.

Смалюк О. Г. с соавт. [48] в 2013 г. привели данные по идентификации с использованием ТСХ и ВЭЖХ БАВ девяти образцов цветков бессмертника песчаного, собранных в 2019-2012 гг. в различных регионах Украины.

Аналізу подлежали образцы сырья, измельченные до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм, экстрагировали спиртом (50 % (об/об)) при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Для испытания использовали хроматографические пластинки MERCK Silica gel F₂₅₄ и систему растворителей муравьиная кислота безводная – вода – этилацетат (10:10:80). Для про-

явления хроматограмм использовали раствор 10 г/л аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле и раствор 50 г/л макрогола 400 Р в метаноле Р. Оценивали результаты путем сравнения величины R_f зон на хроматограмме раствора сравнения и испытуемого раствора. Для приготовления раствора сравнения использовали стандартные образцы (Fluka) веществ-свидетелей: рутин, гиперозид, апигенин-7-глюкозид, лютеолин, апигенин, изосалипурпозид, кверцетин, хлорогеновая, цикориевая, кофейная, феруловая и розмариновая кислоты.

При испытании методом ВЭЖХ использовали раствор стандартных образцов веществ-свидетелей: хлорогеновую, кофейную, феруловую, цикориевую и розмариновую кислоты, рутин, гиперозид, апигенин-7-глюкозид, изосалипурпозид, лютеолин, кверцетин, нарингенин, апигенин, кемферол (Fluka). Анализ выполняли на жидкостном хроматографе Agilent 1200, хроматографическая колонка XTerra C18, размером 4.6 × 250 мм, с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза А — раствор натрия дигидрофосфата моногидрата 0.6 г/л, доведенный до рН 2.5 кислотой фосфорной; подвижная фаза В — ацетонитрил. Скорость подвижной фазы — 1 мл/мин,

Таблица 4

Времена удерживания пиков веществ цветков бессмертника песчаного на хроматограммах

Вещество	№ пика на хроматограмме	Время удерживания (t _R) на хроматограмме извлечения, мин	Время удерживания (t _R) на хроматограмме вещества, мин
Изосалипурпозид	5	7.198	7.399
Салипурпозид	3	3.795	3.976
5,7-Дигидроксифталид	2	2.919	3.221
5-Метокси-7-гидроксифталид	4	4.832	5.285
Вещество неидентифицированное	1	2.215	—

Таблица 5

Содержание изосалипурпозидов в различных образцах цветков бессмертника песчаного

Характеристика образца сырья	Содержание изосалипурпозидов в а.с.с., %
ОАО «Красногорсклексредства»	1.67 ± 0.02
ООО ПКФ «Фитофарм» (г. Анапа)	1.56 ± 0.03
Самарская обл. (с. Переволки, 2008 г.)	1.70 ± 0.03
Ульяновская обл. (г. Барыш, 2008 г.)	1.62 ± 0.02
Пензенская обл. (с. Новая Елюзань, 2005 г.)	1.78 ± 0.03
Саратовская обл. (с. Усовка, 2008 г.)	1.59 ± 0.02

Таблица 6

Метрологические характеристики методики количественного определения изосалипурпозидов в цветках бессмертника песчаного

f	\bar{X}	S	P, %	t(P,f)	ΔX	E, %
10	1.67	0.0356	95	2.23	± 0.079	± 4.75

градиентное элюирование. Детектирование выполняли при помощи диодно-матричного детектора при длине волны 330 нм. Объем вводимой пробы — 100 мкл, температура колонки — 25 °С, время хроматографирования — 60 мин. Идентифицировали вещества путем сравнения времен удерживания пиков на хроматограмме испытуемого раствора с временами удерживания стандартных веществ.

В результате анализа методом ТСХ во время детектирования в УФ-свете при длине волны 365 нм в образцах цветков бессмертника песчаного обнаружили одиннадцать зон с желто-оранжевой, желто-зеленой и голубой флуоресценцией, характерной для фенольных соединений. Из-за совпадения окраски и величины R_f зон на хроматограмме раствора сравнения и испытуемого раствора в образцах идентифи-

цировали хлорогеновую и кофейную кислоты, апигенин-7-глюкозид, изосалипурпозид, лютеолин, апигенин. Фотографии хроматограмм приведены на Рис. 8.

Методом ВЭЖХ в образцах цветков бессмертника песчаного по совпадению времен удерживания пиков на хроматограммах раствора сравнения и испытуемого раствора также идентифицировали хлорогеновую, цикориевую и кофейную кислоты, апигенин-7-глюкозид, изосалипурпозид, нарингенин, апигенин, кемпферол. В испытуемых образцах 4, 5 и 8 идентифицировали также лютеолин. На хроматограммах всех испытуемых образцов наблюдали пики с временами выхода 24.2, 24.9, 30.5 и 31.2 мин. Оценку количественного содержания каждого идентифицированного или неидентифицированного компонента выполнили методом внутренней нормализации (Табл. 5 и 6), типичные хроматограммы приведены на Рис. 9 и 10.

Содержание изосалипурпозидов в исследуемых образцах находится в пределах 38.7-42.8 %, апигенин-7-глюкозида — в пределах 5.9-7.5 %, суммы агликонов (нарингенин, апигенин, кемпферол) — в пределах 9.5-13.23 %, из них наргенина — 1.1-1.4 %; содержание хлорогеновой кислоты — 1.8-8.4 %, кофейной — 0.7-1.24 %, цикориевой — 15.9-23.3 %, т. е. в сумме 28.6-32.8 %. Сумма четырех неидентифицированных соединений — 17.1-27.4 %.

Таким образом, результаты идентификации методами ТСХ и ВЭЖХ подтверждают сходство состава и соотношения основных компонентов в девяти исследованных образцах цветков бессмертника песчаного (за исключением наличия лютеолина, незначительное количество которого определили лишь в трех образцах).

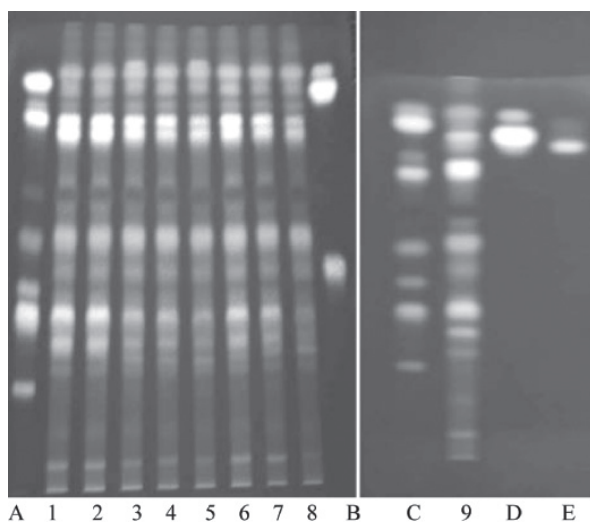
Количественное определение содержания флавоноидов в цветках бессмертника при оценке спектрофотометрическим методом

Пробоподготовку сырья выполняли в соответствии со статьей 9 «Цветки бессмертника песчаного» ГФ XI [49].

В выбранных условиях пробоподготовки спектр исследуемого спиртового экстракта, полученного при извлечении из сырья, имел два максимума поглощения — при 334 нм и 295 нм, а раствор сравнения — спиртовой раствор стандартного образца изосалипурпозидов (Fluka) — имел максимум при 370 нм (Рис. 11).

В названном диапазоне длин волн поглощают: хлорогеновая кислота — 328 нм, цикориевая — 330 нм, розмариновая — 326 нм, которые согласно данным ВЭЖХ содержатся в испытуемых образцах сырья. Дифференцирован-

Рисунок 8



Фотографии хроматограмм, полученных при идентификации флавоноидов в цветках бессмертника песчаного

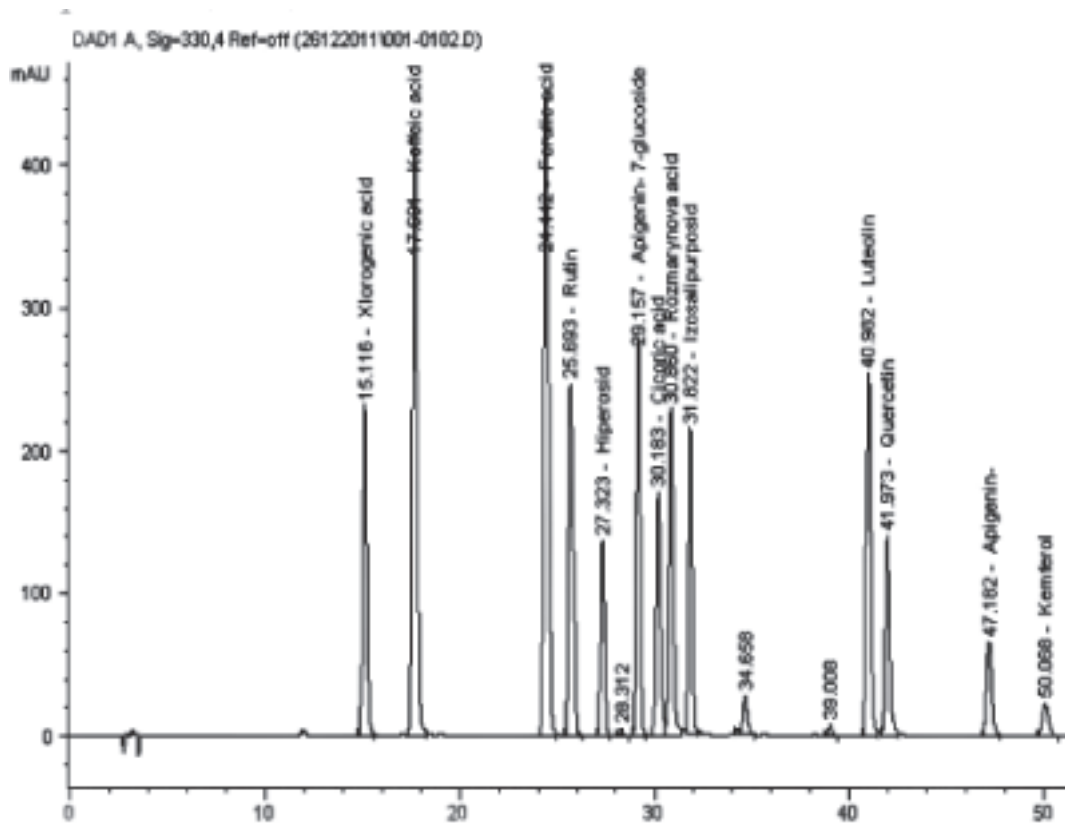
Примечания.

- A — хроматограмма раствора сравнения (рутин, хлорогеновая кислота, гиперозид, апигенина-7-глюкозид, изосалипурпозид, цикориевая кислота, лютеолин, снизу вверх);
- B — хроматограмма раствора сравнения (лютеолин-7-глюкозид, кофейная кислота, кверцетин, снизу вверх);
- C — хроматограмма раствора сравнения (рутин, хлорогеновая кислота, гиперозид, апигенина-7-глюкозид, изосалипурпозид, цикориевая кислота, лютеолин, апигенин, снизу вверх);
- D — хроматограмма раствора сравнения (кофейная кислота, кверцетин, снизу вверх);
- E — хроматограмма раствора сравнения (розмариновая кислота, феруловая кислота, снизу вверх);
- 1-9 — хроматограммы спиртовых извлечений из исследуемых образцов бессмертника песчаного цветков.

ный спектр поглощения спиртового экстракта с алюминия хлоридом имеет максимум поглощения в диапазоне 412-418 нм, а спектр поглощения раствора изосалипурпозида проявляет

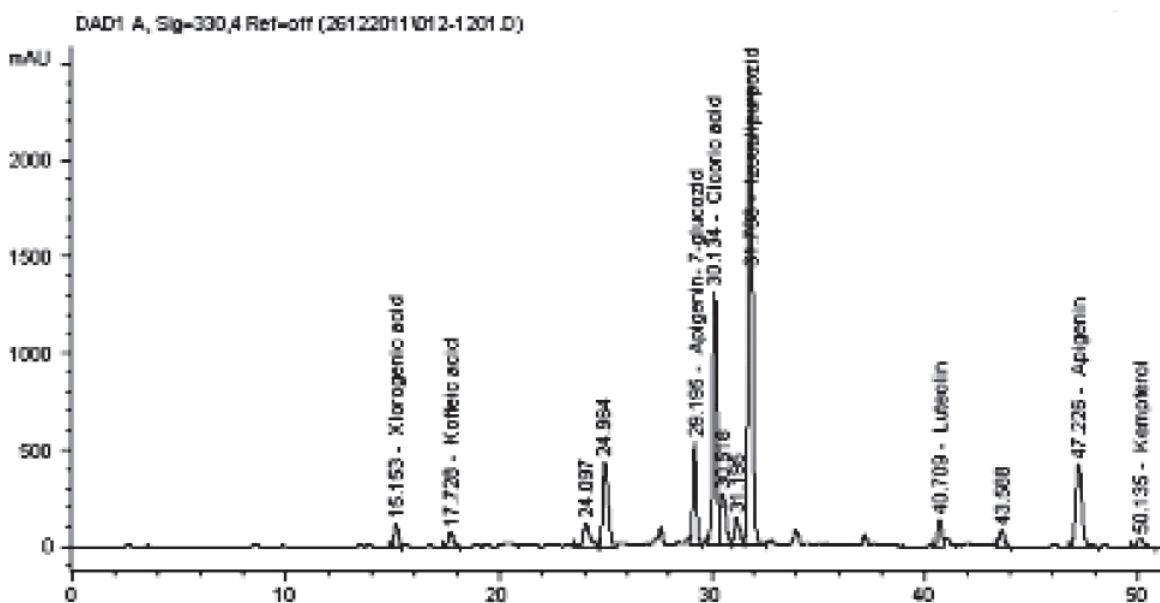
максимум при 418 нм (Рис. 11, 12), что, по мнению авторов, свидетельствует о разнообразии и различном соотношении БАВ в исследуемых образцах сырья. В тоже время основным ком-

Рисунок 9



Типичная ВЭЖХ-хроматограмма раствора сравнения

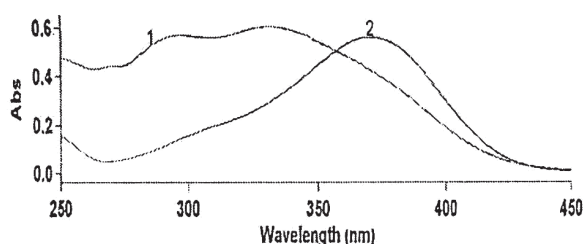
Рисунок 10



Типичная ВЭЖХ-хроматограмма испытуемого раствора

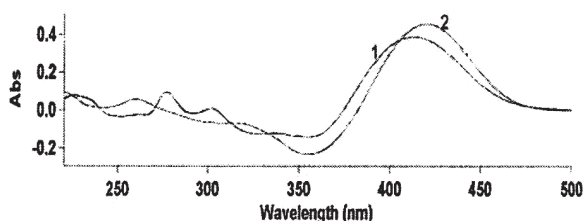
понентом цветков бессмертника является изосалипурпозид.

Рисунок 11



Электронный спектр поглощения спиртового (50 % (об/об)) экстракта из цветков бессмертника песчаного (1) и стандартного образца изосалипурпозид (2)

Рисунок 12



Дифференцированный электронный спектр поглощения комплекса алюминия хлорида с флавоноидами цветков бессмертника песчаного (1) и стандартного образца изосалипурпозид (2)

В результате исследований установлено, что суммарное содержание флавоноидов в исследуемых образцах составило от 1.1 до 2.0 % в пересчете на изосалипурпозид. На основании этих результатов авторы считают, что в сырье содержание флавоноидов должно составлять не менее 1.0 %, в пересчете на изосалипурпозид и сухое сырье.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были взяты образцы цветков бессмертника песчаного, собранные в Украине, соответствующие требованиям ГФУ 2.0, и препарат «Фламин» производства Фармацевтической компании «Здоровье». Растворители и реактивы соответствовали требованиям ГФУ.

Оборудование

Для нанесения проб (10 мкл в полосу длиной 5 мм) на хроматографическую пластинку использовалась система для полуавтоматического нанесения проб Linomat 5 (CAMAG, Швейцария). Нанесение проводили, высушивая пробу в токе теплого воздуха.

Разделение проводили на пластинках HPTLC Silicagel F254 (Merck, Германия) размером

10 × 20 см, на стеклянной основе. Хроматографирование проводили в стеклянной прямоугольной камере с предварительным насыщением камеры подвижной фазой в течение 60 мин.

Дериватизацию (проявление) проводили с использованием CAMAG TLC Sprayer (CAMAG, Швейцария), который позволял получать мелкодисперсную струю реагента-проявителя.

Спектрофотометрические исследования были выполнены на спектрофотометре HP 8453 UV-VIS (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Концентрация исследуемых веществ составила около 10 мкг/мл (растворы в 70 % и 96 % спирте).

Исследования методом ВЭЖХ проведены на хроматографе модели LC-20 Prominence (Shimadzu) в следующей комплектации: насос LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат CTO-20A, системный контроллер CBM-20 ALITE.

Аналитические весы модели AUW220D (Shimadzu), неопределенность результатов взвешивания 0.033 мг.

Результаты исследований

ТСХ

На пластинку в виде полосы длиной 6 мм наносили по 10 мкл метанольных растворов стандартных образцов и препарата «Фламин», а также водно-спиртовых экстрактов цветков бессмертника песчаного.

Для разделения флавоноидов использовали следующие подвижные фазы:

ПФ 1: бензол – метанол (80:20) [5];

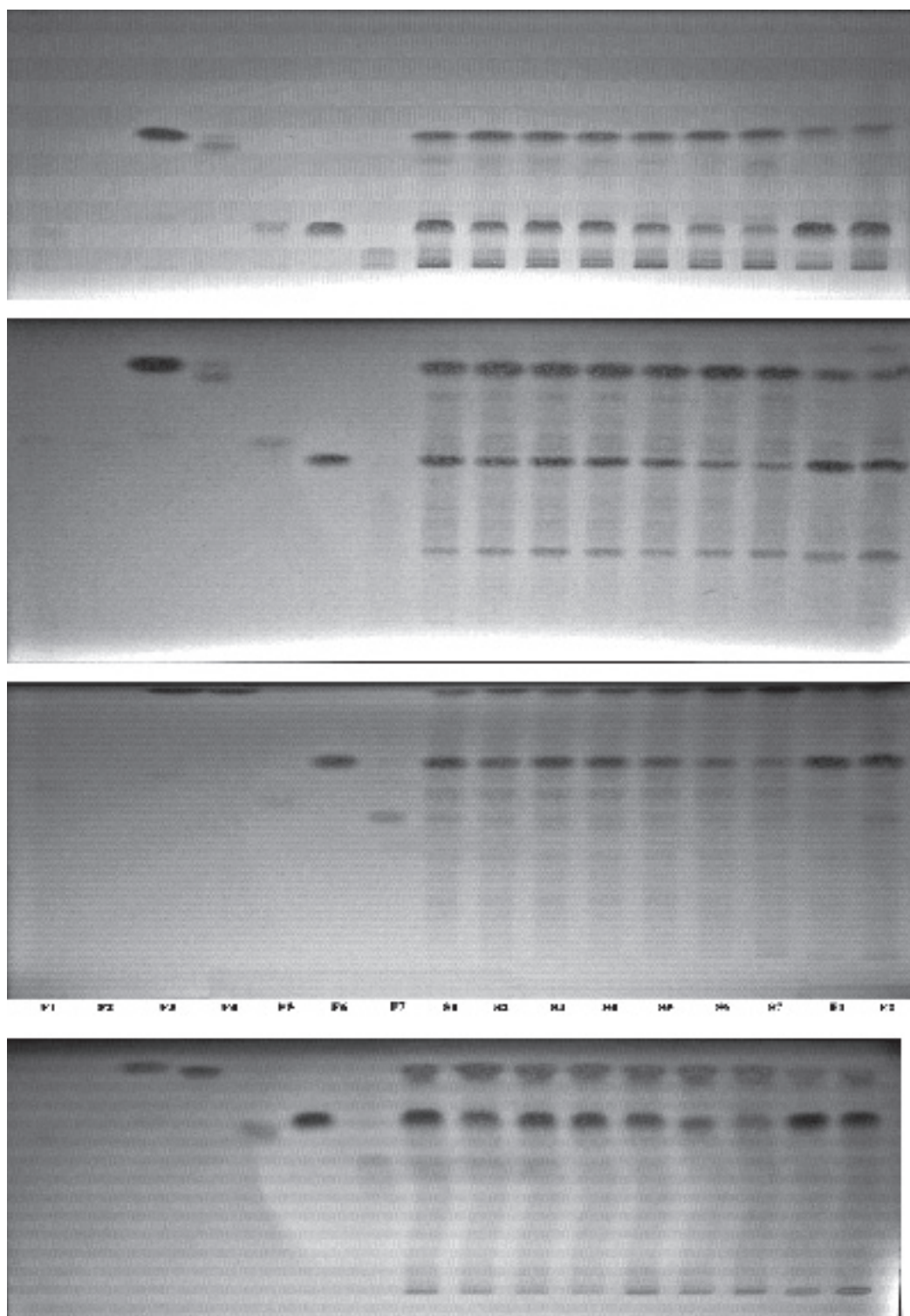
ПФ 2: хлороформ – этанол – вода (26:16:3) [49];

ПФ 3: муравьиная кислота безводная – вода – этилацетат (10:10:80) [50];

ПФ 4: изопропанол – хлороформ – кислота уксусная ледяная (15:15:0.5) [ВФС 42-1518-88].

Для проявления хроматограмм использовали раствор 10 г/л аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле и раствор 50 г/л полиэтиленгликоля 400 в метаноле. Просмотр пластинок проводили в УФ-свете (366 нм и 254 нм) и при дневном свете. При просмотре при дневном свете пластинку предварительно выдерживали в парах аммиака для усиления окраски хроматографических зон определяемых веществ. Используемый реагент позволяет проявлять хроматографические зоны флавоноидов в следующих концентрациях: гиперидин — 1 нг/мм, рутин и хлорогеновая кислота — 5 нг/мм, гиперозид-кверцетин — 10 нг/мм [50].

Рисунок 13



ТСХ-хроматограммы фенольных соединений при просмотре при дневном свете. Сверху вниз: ПФ 1, ПФ 2, ПФ 3, ПФ 4.

Примечания.

Вещества-свидетели: F1 — кемпферол-3-глюкозид; F2 — гелихризин; F3 — нарингенин; F4 — кемпферол; F5 — апигенин-7-глюкозид; F6 — изосалипурпозид; F7 — лютеолин-7-глюкозид.

Испытуемые препараты: S1 — Фламин 020790; S2 — Фламин Здоровье 010790; S3 — Фламин 301089; S4 — Фламин 1089; S5 — Фламин 060581; S6 — Фламин 050381; S7 — Фламин 2017; E1 — Экстракт цветков бессмертника в 70 % этаноле, образец 1; E2 — Экстракт цветков бессмертника в 70 % этаноле, образец 2.

Согласно [18, 20] основными действующими веществами фенольной структуры являются: нарингенин и его 5-моноголикозиды — салипурпозид и гелихризин, халконовый гликозид изо-салипурпозид, флавоон апигенин и его гликозид, флавонол кемпферол в виде 3-диглюкозида и 3-моноголикозида. В то же время авторы работы [48] отмечают, что в составе сырья бессмертника встречаются, в количествах от 2 до 200 мкг/г сухого сырья, следующие кислоты: хлорогеновая, кофейная, феруловая, *p*-кумаровая, синрингиновая, цикориевая и *p*-гидроксibenзойная.

Поэтому нами в качестве стандартных образцов в работе использовались следующие соединения: кемпферол-3-гликозид, гелихризин, нарингенин, кемпферол, апигенин-7-гликозид, изосалипурпозид, лютеолин-7-гликозид, феруловая кислота, хлорогеновая кислота, розмариновая кислота и кофейная кислота.

На Рис. 13 представлены хроматограммы, полученные при использовании вышеуказанных подвижных фаз. При просмотре пластинок в дневном свете четко видны желтые и желто-оранжевые хроматографические зоны нарингенина, кемпферола, апигенин-7-гликозида и изосалипурпозид; несколько слабее окраска зон лютеолин-7-гликозида и кемпферол-3-гликозида. Состав флавоноидов в препарате «Фламин» и экстракте цветков бессмертника

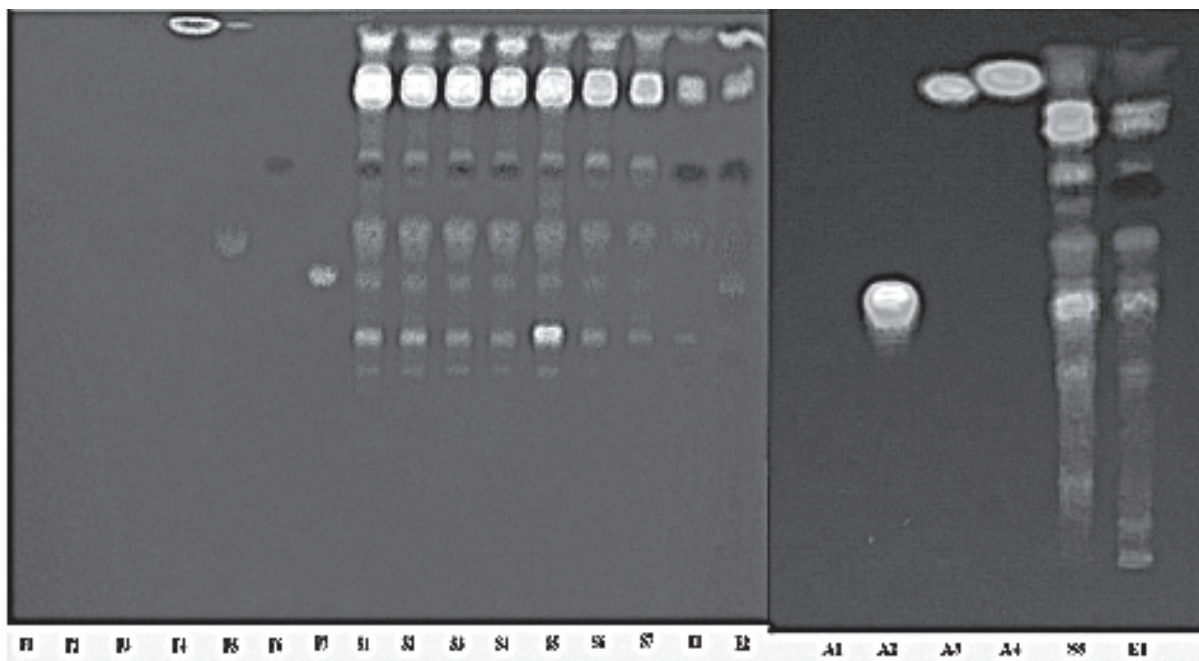
песчаного достаточно сложно оценить, так как при использовании различных подвижных фаз интенсивность окраски различных компонентов отличается. Однако можно отметить, что преобладающими флавоноидами являются изосалипурпозид, апигенин-7-гликозид, нарингенин и кемпферол.

При просмотре пластинок в УФ-свете при длине волны 254 нм дополнительно можно увидеть слабую хроматографическую зону гелихризина, расположенную между кемпферол-3-гликозидом и апигенин-7-гликозидом, которая практически не видна на хроматограммах испытываемых образцов.

Наиболее полную и интересную картину можно наблюдать при просмотре пластинок в УФ-свете при длине волны 365 нм (Рис. 14): проявляются желтые, желто-оранжевые, красные, желто-зеленые, зеленые, голубые, темно-синие и ярко-белые зоны различных фенольных соединений. Зеленые, голубые и ярко-белые зоны флуоресценции характерны для фенольных кислот, которые присутствуют в значительно больших количествах в препарате «Фламин» по сравнению с водно-спиртовым экстрактом цветков бессмертника песчаного.

В результате анализа проделанных исследований можно сделать вывод, что для разделения флавоноидов бессмертника песчаного подходящими являются ПФ 2, ПФ 3 и ПФ 4. ПФ 3 указана

Рисунок 14



ТСХ-хроматограммы фенольных соединений при просмотре при длине волны 365 нм. Слева — хроматограмма со стандартами флавоноидов; справа — со стандартами фенольных кислот

Примечания.

Вещества-свидетели: А1 — феруловая кислота; А2 — хлорогеновая кислота; А3 — розмариновая кислота; А4 — кофейная кислота.

в ГФУ в статье «Цмину піскового квітки^N», хотя, исходя их полученных хроматограмм (Рис. 13), лучше использовать ПФ 2 или ПФ 4.

Что же касается способа проявления, то здесь необходимо решить, что именно необходимо идентифицировать в исследуемом растительном сырье (идентификация характерных для бессмертника флавоноидов). Проявление и аминоэтиловым эфиром дифенилборной кислоты, и спиртовым раствором хлорида алюминия позволяет надежно идентифицировать кемпферол, апигенин-7-глюкозид, изосалипурпозид, лютеолин-7-глюкозид и кемпферол-3-глюкозид как при дневном свете, так и при просмотре в УФ-свете. Оксикоричные кислоты при тех же проявителях четко видны только при просмотре в УФ-свете при длине волны 365 нм. Поэтому просмотр пластинок при длине волны 365 нм является оптимальным с обеих точек зрения, невзирая на используемый проявитель.

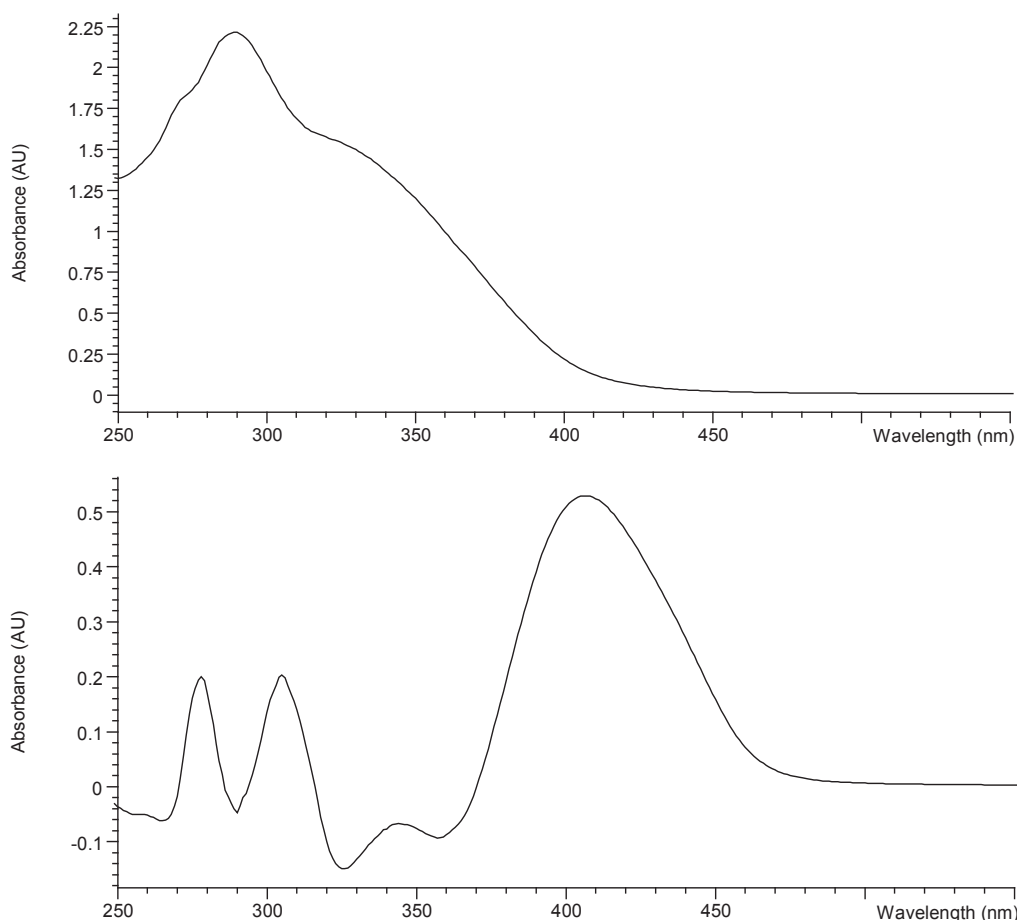
Спектрофотометрические исследования

На Рис. 15 приведен УФ-спектр раствора, полученный в условиях, описанных в статье 9

«Цветки бессмертника песчаного» ГФ XI, который полностью совпадает со спектром препарата «Фламин», а на Рис. 16 — УФ-спектры флавоноидов и оксикоричных кислот, которые содержатся в бессмертнике. Как видно из рисунков, при длине волны 315 нм поглощают не только флавоноиды, которые и обеспечивают фармакологическое действие данного препарата, но и оксикоричные кислоты, которые являются «балластным» продуктом при экстракции. Причем поглощение оксикоричных кислот в несколько раз больше, чем поглощение флавоноидов при их равных концентрациях. Следовательно, данная методика не может дать адекватного результата по содержанию биологически активных флавоноидов в цветках бессмертника песчаного и препаратах на его основе.

Вывод о завышении процентного содержания флавоноидов в сырье по указанной методике был сделан авторами работ [47, 48, 51]. Серьезными недостатками методики ГФ XI, по мнению авторов, являются недоступность изосалипурпоза как ГСО (производится в Укра-

Рисунок 15



УФ-спектр сухого экстракта цветков бессмертника песчаного (10 мкг/мл) без добавления (верхний) и с добавлением (нижний) хлорида алюминия

ине), а также завышенные результаты количественного содержания суммы флавоноидов, поскольку экстракт не подвергается никакой дополнительной очистке. Авторы предложили методику дифференциальной спектрофотометрии, основанную на реакции флавоноидов с хлоридом алюминия. Измерения оптической плотности проводили при длине волны 411 нм; в качестве стандартного образца использовали рутин или, вместо ГСО рутин, использовали для расчетов удельный показатель поглощения комплекса рутин с хлоридом алюминия (248 при длине волны 411 нм).

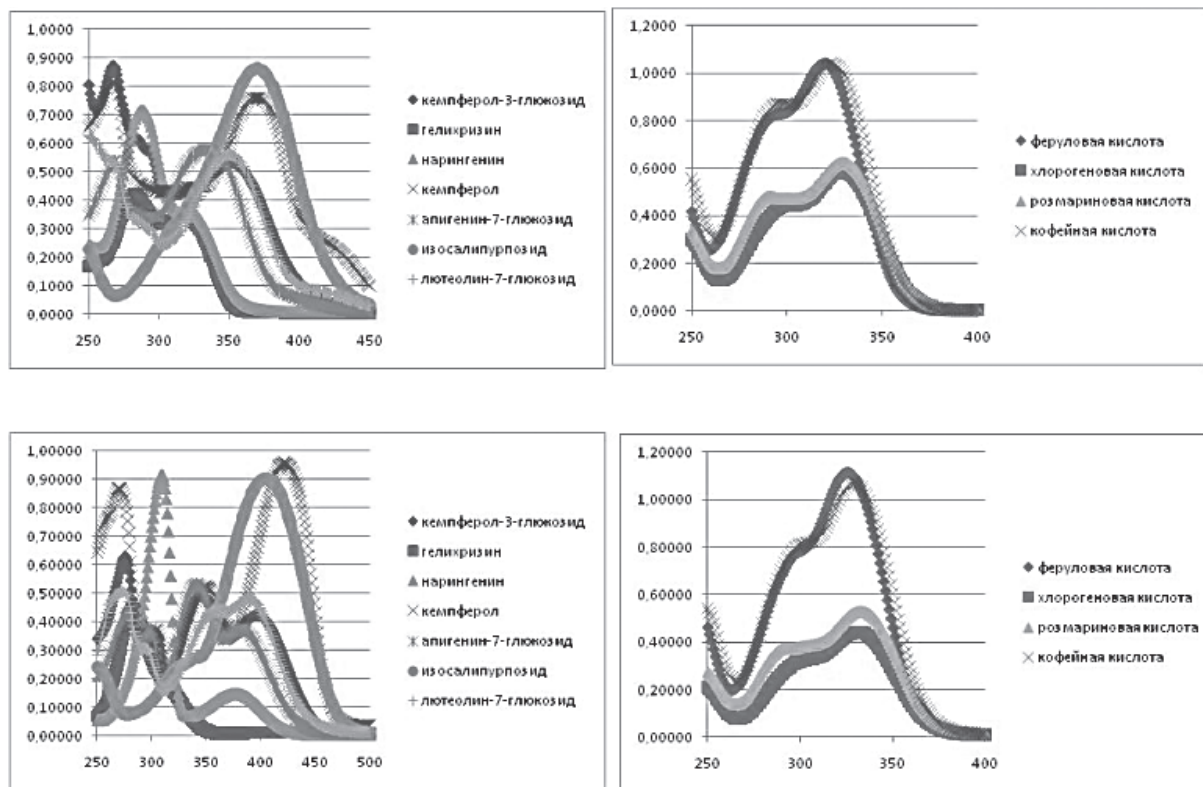
Однако следует отметить, что в перечисленных методиках допущена неточность в значении удельного показателя поглощения изосалипурпозид — 260, величина которого при 315 нм составляет 425. Поэтому при проведении нами исследований содержание суммы флавоноидов и оксикоричных кислот составляет не 14-15 %, а 7-8 %.

Куркиной А. В. с соавт. [42] была разработана и предложена методика определения суммы флавоноидов, основанная на часовой экстракции цветков бессмертника 70 % этанолом, использовании реакции с хлоридом алюминия и

измерением оптической плотности раствора при длине волны 418 нм; параллельно измерялась оптическая плотность комплекса ГСО изосалипурпозид с хлоридом алюминия или для расчетов использовали удельный показатель поглощения комплекса изосалипурпозид с хлоридом алюминия (500 при длине волны 418 нм).

На Рис. 15 приведен УФ-спектр сырья, полученный без добавления и с добавлением хлорида алюминия, а на Рис. 16 приведены спектры комплексов флавоноидов и оксикоричных кислот с хлоридом алюминия. Как можно увидеть из представленных рисунков, для оксикоричных кислот нет существенного различия в спектрах. Что же касается флавоноидов, то для большинства флавоноидов при реакции с хлоридом алюминия наблюдается существенное изменение в ультрафиолетовых спектрах: поглощение ряда флавоноидов уменьшается, а для некоторых (изосалипурпозид, кемпферол и глюкозидсодержащие флавоноиды) наблюдается сильный батохромный сдвиг максимума поглощения. Содержание суммы флавоноидов в исследуемых образцах составило, по результатам наших исследований, 2,24-2,80 %. Это

Рисунок 16



УФ-спектры водно-спиртовых и спиртовых растворов исследуемых флавоноидов (левая колонка) и оксикоричных кислот (правая колонка) без добавления (верхний ряд) и с добавлением (нижний ряд) хлорида алюминия

говорит о том, что методика с использованием хлорида алюминия будет давать более адекватный результат по количественному содержанию биологически активных флавоноидов, который должен быть подтвержден результатами, полученными методом ВЭЖХ.

Исследование ВЭЖХ

Исследование проводили с использованием внешних стандартов, одним из которых является стандартный образец изосалипурпозида.

Растворы препарата «Фламин» и ЛРС готовили в соответствии с требованиями нормативной документации ХФЗ «Здоровье».

Условия хроматографирования:

- колонка стальная размером 250 × 4.6 мм Spherisorb ODS 5 мкм;
- состав подвижной фазы программируют:

Время, мин	Содержание подвижной фазы А	Содержание подвижной фазы Б
0-2.5	90	10
2.5-25	90-0	10-100
25-30	0	100
30-32	0-90	100-10
32-35	90	100

- скорость подвижной фазы — 1.0 мл/мин;
- температура колонки — 40 °С;
- длина волны детектирования — 315 нм;
- объем вводимой пробы — 5 мкл.

Состав подвижной фазы А: водный раствор 2.04 г/л лития дигидрофосфата с фосфорной кислотой (рН 2.5) — ацетонитрил (90:10).

Состав подвижной фазы А: водный раствор 2.04 г/л лития дигидрофосфата с фосфорной кислотой (рН 2.5) — ацетонитрил (10:90).

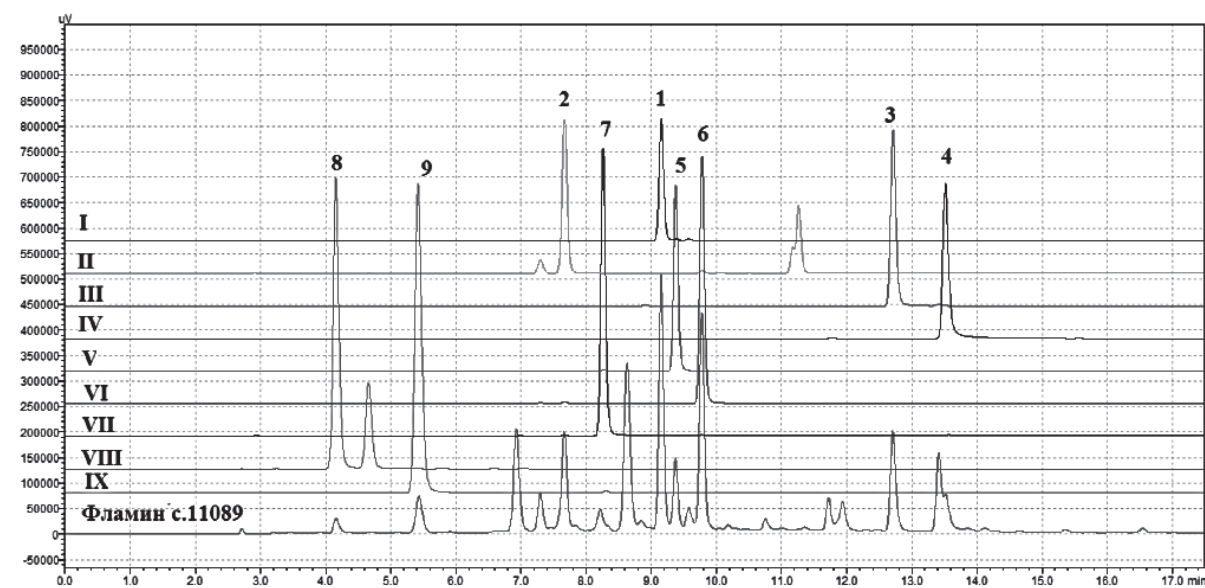
Содержание суммы идентифицированных соединений составило в препарате «Фламин» 76.5-98.8 % при содержании изосалипурпозида 20.6-40.1 %, гелихризина — 3.71-6.6 %, нарингенина — 2.4-4.3 %, кемпферола-3-гликозида — 11.05-13.5 %, хлорогеновой кислоты — 0.66-1.5 %, кофейной кислоты — 0.93-1.7 %.

В сырье содержание суммы идентифицированных соединений от 1.83 до 4.47 %, из них изосалипурпозида — 0.38-1.52 %, гелихризина — 0.05-0.22 %, нарингенина — 0.03-0.15 %, кемпферола-3-гликозида — 0.20-0.49 %, хлорогеновой кислоты — 0.001-0.04 %, кофейной кислоты — 0.0016-0,037 %.

Таким образом, результаты исследований показали, что сумма идентифицированных флавоноидных соединений, отвечающих за желчегонное действие, составляет, в процентном отношении, в сырье — до 40.2 %, в препарате «Фламин» — до 51 %.

Это позволяет стандартизировать лекарственное сырье и препарат «Фламин» по основному биологически активному соединению изогелихризину и соответствующим флавоновым гелинезидам и агликонам, применяя методику спектрофотометрического определения комплекса этих соединений с хлоридом алюминия при длине волны 418 нм, а также позволяет контролировать качество как ЛРС бессмертника песчаного, так и препарата «Фламин».

Рисунок 17



Хроматограммы растворов стандартных образцов кемпферола-3-гликозида (I), гелихризина (II), нарингенина (III), кемпферола (IV), апигенина-7-гликозида (V), изосалипурпозида (VI), лютеолина-7-гликозида (VII), хлорогеновой кислоты (VIII), кофейной кислоты (IX) и раствора препарата «Фламин» ХФЗ «Здоровье»

Именно такая методика должна быть введена в национальную монографию ГФУ на цветки бессмертника, а не переводение всех гликозидов флавоноидных соединений в агликоны с последующим пересчетом на гликозид гипериозид, не входящий в состав ЛРС.

В дальнейшем, при проведении хромато-масс-спектрофотометрических исследований сырья и препаратов бессмертника, можно будет установить полный состав БАВ и их процентное содержание, а также проводить определение содержания оксикоричных кислот и их соотношения с халкон-флавоноидными соединениями.

Выводы

1. Проведенный анализ литературных данных и собственных исследований по разработке показателей качества ЛРС и создания препаратов на примере цветков бессмертника песчаного позволил подтвердить предложенную нами методику по оценке качества ЛРС и фитопрепаратов по содержанию БАВ, отвечающих за терапевтический эффект.

2. По данным исследований (хроматографических, оптических) разработана методика контроля качественного и количественного состава БАВ, позволившая установить содержание халкон-флавоноидных соединений, отвечающих за желчегонное действие цветков бессмертника, что согласуется с результатами исследований отечественных и зарубежных авторов.

3. Подтверждено, что на сегодняшний день оптимальными методиками контроля качества цветков бессмертника являются ТСХ-методика на пластинках НРТСЛ Silicagel F 254 в системах хлороформ — этанол — вода (26:16:3) или изопропанол — хлороформ — уксусная кислота (15:15:0.5), и методика количественного определения БАВ по комплексу с хлоридом алюминия при длине волны 418 нм, в пересчете на халкон-гликозид изосалипурпозид. Этот вывод подтвержден данными ВЭЖХ с применением изосалипурпоза как внешнего стандарта.

Авторы полагают, что именно эти методики должны быть использованы в ГФУ в монографии на ЛРС цветки бессмертника песчаного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Охраняемые нормативные документы ГНЦЛС (2000-1920 гг.) // Фармаком. Специальный выпуск. — 2000. — № 1-6. — 145 с.
2. Георгиевский В.П., Оболенцев Г.В. Концепция создания препаратов природного происхождения в Государственном научном центре лекарственных средств / В.П. Георгиевский, Г.В. Оболенцева // Фармаком. — 1999. — № 5. — С. 27-38.
3. Георгиевский В.П., Казаринов И.А., Карьев М.О. Физико-химические методы биологически активных веществ рас-

тительного происхождения. — Изд-во «Ылым». — Ашхабад, 1976. — 218 с.

4. Георгиевский В.П. Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. — Новосибирск: Сиб. отделение, 1990. — 333 с.

5. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под. ред. чл.-кор. НАН Украины Георгиевского В.П. — Т. II. — Гл. 2. Тонкослойная хроматография. — Георгиевский В.П., Куликов А.Ю., Георгиевский Г.В. — Харьков: НТМТ, 2011. — С. 545-602.

6. Георгиевский В.П. Исследование физико-химических свойств флавоноидов, кумаринов и антрахинонов с целью разработки методов анализа некоторых фитохимических препаратов / дисс. ... докт. фарм. наук / В.П. Георгиевский. — Харьков, 1980 г. — 420 с.

7. Литвиненко В.И. Химия природных флавоноидов и создание препаратов при комплексной переработке растительного сырья / дисс. ... докт. хим. наук / В.И. Литвиненко. — Харьков, 1990. — 450 с.

8. Георгиевский В.П., Макаревич И.Ф., Литвиненко В.И., Комиссаренко Н.Ф. Новые природные и полусинтетические биологически активные соединения ГНЦЛС. — Харьков: «Основа», 1995. — 470 с.

9. Руленко И.А., Ручкин Е.Е., Колесник Ю.А., Георгиевский В.П. Анализ смеси флавоноидов бессмертника песчаного методом ВЭЖХ / Тезисы докладов пятого всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям // Секция химии. Таллин, 1987. — С. 45-46.

10. Колесник Ю.А., Руленко И.А., Ручкин В.Е., Георгиевский В.П., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Определение изосалипурпоза методом ВЭЖХ / Тезисы докладов пятого всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям // Секция химии. Таллин, 1987. — С. 45-46.

11. Тюкавкина Н.А. Исследование ВЭЖХ в области флавоновых соединений / Тезисы докладов пятого всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям // Секция химии. Таллин, 1987. — С. 112-113.

12. Ручкин В.Е., Руленко И.А., Колесник Ю.А., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Исследование химических превращений изосалипурпоза методом ВЭЖХ / Тезисы докладов пятого всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям // Секция химии. Таллин, 1987. — С. 89-90.

13. Руленко И.А. Исследование фламина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / Руленко И.А. — М., 1983. — 22 с.

14. Тюкавкина Н.А., Ручкин В.Е., Колесник Ю.А., Руленко И.А., Георгиевский В.В. Способ количественного определения компонентов фламина / АС СССР Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий. — Бюл. № 32 от 30.08.1987. — С.5.

15. Сало В.П., Бородин Л.И., Литвиненко В.И., Спиридонов В.Н., Паколин Д.А. Исследование качества культивируемого бессмертника песчаного / Тез. докладов III съезда фармацевтов Украины. — Харьков, 1979. — С. 244-245.

16. Литвиненко В.И., Попова Н.В., Валькович О.О. Цмін: ботанічна характеристика, хімічний склад, застосування // Фармаком. — 2001. — № 1. — С. 9-15.

17. Машковский М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. Изд. 15. — М.: Новая волна. — 2006. — 1206 с.

18. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. — Харьков: СПДФО Мосякян, 2008. — 510 с.

19. Куркина А.В. Исследование компонентов состава цветков *Helichrysum arenarium* (L.) Moench / Химическое растительное сырье. — 2011. — № 2. — С. 113-116.

20. Попова Н.В., Литвиненко В.И., Куцанян А.С. Лекарственные растения мировой флоры: энциклопедия, справочник. — Харьков: Діса плюс, 2016. — 540 с.

21. Сало В.П., Овдиенко О.А., Пакаян Д.А., Спиридонов В.И., Прокопенко А.П. Сравнительное физико-химическое

- измерение цветков различных видов бессмертника / Физико-фармацевтический журнал. — 1977. — № 14. — С. 102-104.
22. Георгиевский В.П. Контроль качества фитохимических препаратов и растительного сырья физико-химическими методами / Труды II съезда фармацевтов УССР. — Киев, 1974. — С. 122-130.
23. Петрова М.К. и др. К фармакологии *Arennaria dioica* (кошачьи лапки). — Тер. арх., 1929. — № 4. — С. 420.
24. Коган-Ясный В.М., Фролов П.Ф., Лебедева и др. К вопросу о дискенизии, о диагностике и комплексном лечении желчевыводящих путей. — Тер. арх., 1974. — № 10.
25. Петровский Г.А. К фармакологии бессмертника. — Фармация, 1934. — Т. 5, № 12. — С. 11.
26. Русин Г.И. О лечении болезней печени и желчных путей золотистым или желтым бессмертником. — Сов. врач, газета, 1935. — № 22. — С. 1766.
27. Антонова Е.Г. Клинические наблюдения над действием цветов бессмертника. — В кн.: Труды Ленинградск. фармацевтич. ин-та, 1936. — № 2. — С. 246.
28. Стериопуло С.С. Бессмертник и его терапевтическое применение. — Фармация, 1943. — № 3. — С. 33.
29. Петровский Ю.А., Скакун Н.П. и др. Фламин (*Helichrysum arenarium*) как желчегонное средство. — Фармакол. и токсикол. — 1953. — № 5. — с. 50.
30. Панченков М.М. Бессмертник в терапии холецистопатии. — Сов. мед., — 1946. — № 8-9. — С. 43.
31. Хаджай Я.И. Фармакологическое исследование фламина бессмертника / Автореф. дисс. канд. — Харьков, 1950. — С. 17.
32. Хаджай Я.И. До питань про механізм дії флавіну. В кн.: Перша конференція Українських фармакологів / Тези доповідей. — Тернопіль, 1986. — С. 256-257.
33. Хаджай Я.И. Биологическая активность флавоноидов бессмертника // Врачебное дело. — 1948. — № 1. — С. 81-83.
34. Хаджай Я.И., Оболенцева Г.В. В кн. Фенольные соединения и их биологическая функция. — М.: Из-во Наука, 1968. — 365 с.
35. Хаджай Я.И., Оболенцева Г.В., Литвиненко В.И., Максютин Н.П. В сб. «Физиологически активные вещества». — Вып. 1. — Киев: «Наукова думка», 1969. — С. 3.
36. Павлов И.П. В кн. Зеленский С.Е. Лекарственные растения СССР. — М.: Медгиз, 1958.
37. Прокопенко О.П., Спірідонов В.Н., Литвиненко В.І., Чернобай В.Т., Оболенцева Г.В., Хаджай Я.І., Татарко З.І. Фенольні сполуки цмину та їх біологічна активність / Фармацевтичний журнал. — 1972. — № 4. — С. 3-7.
38. Оболенцева Г.В., Чайка Л.А. Исправлений фармакологических исследований в ГНЦЛС / Фармаком. — 1995. — № 3. — С. 4-5.
39. Хаджай Я.И., Оболенцева Г.В. Влияние флавоноидных соцветий на некоторые функции желудочно-кишечного тракта. В кн. Фенольные соединения и их биологические функции. — М.: Наука, 1968. — С. 365-371.
40. Давыдова С.М., Филиппова Л.И. К фармакодинамике фламина / Врачебное дело. — 1984. — № 1. — С. 1-4.
41. Куркина А.В. Фитохимические исследования препаратов бессмертника песчаного / Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — Самара, 2007. — Т. 2. — С. 177-182.
42. Куркина А.В. Новые подходы к стандартизации сырья бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) / Традиционная медицина. — 2010. — № 1(20). — С. 12-14.
43. Куркина А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Содержание изосалипурпозидов в цветках бессмертника песчаного / Фармация. — 2011. — Т. 59, № 1. — С. 12-14.
44. Куркина А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Перспективы исследования высокоэффективной жидкостной хроматографии для стандартизации сырья и препаратов бессмертника песчаного / Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — Самара, 2011. — Т. 13, № 1. — С. 28-32.
45. Куркина А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Определение содержания изосалипурпозидов в сырье и препаратах бессмертника песчаного / Хим.-фарм. журнал. — 2012. — Т. 46, № 1. — С. 28-33.
46. Куркин В.А., Авдеева Е.В., Правдинцева О.Е., Еркина А.В. и др. Актуальные аспекты использования государственных стандартных образцов в фармацевтическом анализе лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов. XVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» / Тез. докладов. — М., 2010. — С. 241-243.
47. Куркина А.В. Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих флавоноиды / Автореф. диссерт. на соискание ученой степени докт. фарм. наук 14.04.02. — Фармацевтическая химия и фармакогнозия. — Самара, 2013. — Самарский гос. мед. ун-т МЗ Российской Федерации.
48. Смалюк О.Г., Нестер М.І., Сур С.В. Стандартизація цмину піскового квітів за складом і вмістом флавоноїдів / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. — № 3 (13). — С. 35-38.
49. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
50. Цмину піскового квітки^N // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Доповнення 1. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. — С. 243-244.
51. Смирнов Л.П. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бессмертника песчаного / Химико-фармацевтический журнал. — 1998. — № 6. — С. 35-36.

УДК 615.322:615.072:615.244

Резюме

Георгієвський В. П., Зінченко О. А, Куліков А. Ю., Литвиненко В. І, Колісник О. В., Попова Н. В., Бобрицька Л. О. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут» Національний фармацевтичний університет

До питання стандартизації лікарської рослинної сировини при створенні фітопрепаратів. Повідомлення 1. Оцінка квіток цмину піскового за вмістом біологічно активних сполук

Проведено аналіз літературних даних і власних досліджень з установлення якісного та кількісного складу БАВ квіток цмину піскового, структури і біологічної активності виділених сполук, розробки методик, що дозволяють оцінити за даними результатів хроматографічних і оптичних методів технологічний процес отримання фітопрепаратів від сировини до готової лікарської форми.

Проведено оцінювання існуючих методик відповідно до ДФУ за критеріями селективності та правильності.

Ключові слова: лікарська рослинна сировина, цмин пісковий, флавоноїди, жовчогінна дія, ізосаліпурпозид, ТШХ, ВЕРХ, стандартизація лікарської рослинної сировини.

UDC 615.322:615.072:615.244

Summary

Georgievskiy V. P., Zinchenko O. A., Kulikov A. Yu.,

Litvinenko V. I., Kolisnyk O.V.,

Popova N. V., Bobritskaya L. A.

State Enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines», Ukraine

State Enterprise «State Scientific Center for Drugs and Medical Products», Ukraine

National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute», Ukraine

National University of Pharmacy, Ukraine

To the question about standardization of medicinal plants during phyto-drugs manufacturing. Report 1. Estimation of immortelle flowers according to biologically active compounds content

In the presented manuscript the literature data and authors self-data investigations up to development of the medicinal plants quality parameters and drug based on immortelle inflorescence manufacturing were summarized. The obtained data was confirmed the methodology of the medicinal plant quality control and phyto-drugs based on their biological activity components, that is charged with the therapeutic activity. The content of chalcon-flavonoid compounds of immortelle, that meets to immortelle choleric activity, was estimated. The obtained data was confirm to the known results of home and foreign authors. It was demonstrated, that for the identification of immortelle compounds using HPTLC Silica gel F254 plates was acceptable the following mobile phases: chloroform – methanol – water (26:16:3) and isopropanol – chloroform – glacial acetic acid (15:15:0.5). The assay of biological activity compounds of immortelle appropriate leads by using spectrophotometric methods with aluminum chloride at 418 nm detection wavelength; calculation should be passed on the chalcon-glucoside izosalipurposide.

Keywords: herbal drug, *Helichrysum arenarium*, flavonoids, Flamin, choleric activity, izosalipurposide, TLC, HPTLC, standartization of herbal drug.

Георгиевский Виктор Петрович. Д. фарм. н., профессор, чл.-кор. НАН Украины, гл. науч. сотр.-консультант ГП «Фармакопейный центр».

Зинченко Александр Анатольевич. Окончил Харьковский государственный университет (1983). Зав. Лабораторией фармакопейного анализа ГП «Фармакопейный центр». К. фарм. н. (2006).

Куликов Артем Юрьевич. Окончил Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина (1993). Ст. науч. сотр. Лаборатории фармакопейного анализа ГП «Фармакопейный центр». Д. х. н. (2014).

Литвиненко Василий Иванович. Д. х. н., профессор. Зав. лабораторией химии и технологии фитохимических препаратов ГП «ГНЦЛС».

Колиснык Алексей Васильевич. Окончил Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина (2012). Ведущий химик ООО «Фармацевтическая компания "Здоровье"». Аспирант кафедры биотехнологии, биофизики и аналитической химии НТУ «Харьковский политехнический институт» (2015).

Попова Наталья Вячеславовна. Д. фарм. н. (2013), профессор (2014). Зав. кафедры нутрициологии и фармацевтической броматологии Национального фармацевтического университета.

Бобрицкая Лариса Александровна. Д. фарм. н. (2015), доцент кафедры заводской технологии Национального фармацевтического университета (с 2004).

Фармако-економічні та маркетингові дослідження

УДК 615.1: 339.13

Ольховська А. Б.

Національний фармацевтичний університет

Аналіз розбіжностей категорійного апарату «просування» та «маркетингові комунікації» лікарських засобів і його вдосконалення з урахуванням галузевої специфіки

З огляду на раціональне застосування потенціалу інноваційних інструментів маркетингових комунікацій у системі просування лікарських засобів суб'єктами господарювання фармацевтичного сектора виникла потреба у науково-обґрунтованому розумінні, докладному аналізі та вдосконаленні сутності категорійного апарату понять «маркетингові комунікації» та «просування» з урахуванням галузевої специфіки.

За результатами проведеного контент-аналізу праць провідних вітчизняних та зарубіжних учених з питань просування товару та маркетингових комунікацій автором узагальнено та систематизовано за певними класифікаційними ознаками категорійний апарат понять «просування» та «маркетингові комунікації», виокремлено їхні розбіжності, вдосконалено та запропоновано відповідно до особистого бачення та новітньої парадигми трактування понять «просування» та «маркетингові комунікації» лікарських засобів.

Ключові слова: просування, маркетингові комунікації, лікарські засоби.

Глобалізація ринку, імплементація міжнародного досвіду просування лікарських засобів з урахуванням національної доктрини, докорінні зміни в комунікативному просторі країни стосуються економічних інтересів усіх суб'єктів фармацевтичного сектора галузі охорони здоров'я. Особливо нагальними в ринкових реаліях висококонкурентного середовища є інноваційні інструменти маркетингових комунікацій у діяльності вітчизняних фармацевтичних підприємств. Раціональне застосування потенціалу новітніх інструментів маркетингових комунікацій у системі просування лікарських засобів суб'єктами господарювання фармацевтичного сектора потребує науково обґрунтованого розуміння сутності понять «маркетингові комунікації» та «просування», їх уточнення та взаємозв'язку.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Видатні зарубіжні та вітчизняні науковці, такі як Армстронг А. [1], Бернет Дж. [2], Ван Ден Берг Дж. [3], Вонг В. [1], Геуенс М. [3], Келлер К. Л. [4], Котлер Ф. [1, 5, 6], Ламбен Ж. Ж. [7], Моріарті С. [2], Пелсмакер П. [3], Сондерс Дж. [1], Багієв Г. Л. [8], Божкова В. В. [9], Душкіна М. Р. [10], Лідовська О. П. [11], Панкрухін А. П. [12], Синяєва І. М. [13], Шарков Ф. І. [14], Ян В. Віктор [15], Балабанова Л. В. [16], Войчак А. В. [17, 18], Гаркавенко С. С. [19], Зозульов А. В. [20], Зунде В. В. [21], Ілляшенко С. М. [22], Крамаренко В. І. [23], Павленко А. Ф. [18], Примак Т. О. [24], Ромат Є. В. [25] та ін., приділяли значну увагу питанням сутності категорійного апарату «просування»

та «маркетингові комунікації» у класичній маркетинговій літературі.

У фармацевтичному маркетингу вже сформовано значний науковий пласт теоретичних та практичних напрацювань й розробок, що присвячені просуванню та маркетинговим комунікаціям лікарських засобів. Вони й стали підґрунтям для подальшого нашого дослідження. Серед видатних науковців фармацевтичного сектора галузі охорони здоров'я, роботи яких висвітлюють категорійний апарат «просування» та «маркетингові комунікації», є Большева С. Н. [26, 27], Вольська О. О. [28], Громовик Б. П. [29], Денісова М. Н. [28], Діхтярьова Н. М. [30], Ішмухаметов А. А. [28], Коласса Є. М. [31], Лагуткіна Т. П. [26, 27], Мнушко З. М. [30], Пауков С. В. [32], Перкінс Г. [31], Сікер Б. [31], Сміт М. С. [31], Усенко В. О. [33], Юданов А. Ю. [28].

Проте, результати проведеного контент-аналізу з питань категорійного апарату досліджуваних понять виявили існування розбіжностей серед науковців фармацевтичного сектора, які зумовлюють необхідність подальшого їх обґрунтування та вдосконалення у контексті сучасних реалій принципово нових і якісних змін комунікативного простору в країні.

Метою дослідження було проаналізувати розбіжності категорійного апарату просування та маркетингові комунікації у фармації й вдосконалити його з урахуванням галузевої специфіки і сучасних тенденцій розвитку в інформаційно-комунікативному просторі суспільства.

Матеріали та методи дослідження

Теоретико-методологічною основою дослідження були фундаментальні положення мар-

кетингу, праці провідних вітчизняних та зарубіжних авторів з питань просування товару та маркетингових комунікацій. З метою вирішення завдань дослідження застосовані методи контент-аналізу, логічного аналізу та узагальнення, структурно-системного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення

Категорійний апарат «просування» та «маркетингові комунікації» має досить багато варіацій їх сутності. Аналіз наукової літератури свідчить, що поняття «маркетингові комунікації» досить часто ототожнюють з поняттям «просування

Таблиця 1

Систематизація категорійного апарату «просування»

Класифікаційна ознака	Сутність поняття	Автор, джерело
Процес певної дії	Просування товару за допомогою реклами та стимулювання збуту в місцях купівлі.	Ламбен Ж. Ж. [7, с. 547]
	Поєднання класичних (основних) та сучасних (синтетичних) засобів маркетингових комунікацій.	Балабанова Л. В. [16, с. 489]
	Загальне поняття, яке передбачає використання всіх елементів комплексу маркетингу, у т.ч. й маркетингових комунікацій, для переміщення товару на ринку.	Примак Т. О. [24, с. 15]
	Будь-яка форма повідомлень, які підприємство чи організація використовує для інформування, переконання, нагадування про себе, свої товари та/або послуги; об'єднує низку елементів із притаманними їм властивостями: рекламу, public relations (зв'язки з громадськістю), стимулювання збуту, персональний продаж тощо; набір засобів впливу на цільові сегменти ринку або інші контактні аудиторії з метою формування прихильного ставлення до підприємства, його цілей та завдань, товарів і/або послуг.	Григорчук Т. В. [35, онлайн ресурс]
Досягнення цілей	Специфічне поєднання реклами, особистого продажу, заходів щодо стимулювання збуту і організації зв'язків з громадськістю, які використовуються компанією для досягнення рекламних і маркетингових цілей.	Котлер Ф., Армстронг А., Вонг В., Сондерс Дж. [1, с. 712]
	Цілісний і правильно підібраний комплекс елементів, необхідних для планування маркетингових комунікацій, щоб успішно досягти поставлених цілей.	Бейкер М. [36, с. 653]
	Будь-яка збутова діяльність, що доповнює або координує особистий продаж і рекламу з метою отримання прибутків.	Завадський Й. С., Осовська Т. В., Юшкевич О. О. [37, с. 256]
Передача інформації	Комплекс дій та засобів, за допомогою яких організація передає на ринок інформацію про товар та/чи фірму, формує потреби покупців, викликає та регулює попит, а також знижує цінову гнучкість останнього.	Ян В. Віктор [15, с. 61]
	Сукупність дій і засобів, за допомогою яких фірма передає інформацію на ринок стосовно товару чи фірми, вивчає потреби споживачів, провокує їх до купівлі й скеровує попит.	Липчук В. В., Дудяк Р. П., Бугіль С. Я., Янишин Я. С. [38, онлайн ресурс]
Зв'язки з суб'єктами ринку	Синонімічне терміну «маркетингова комунікація», або політика комунікації підприємства з ринком.	Ян В. Віктор [15, с. 61]
	Вміння підприємства-виробника або фірми-постачальника спілкуватися зі своїми споживачами, знаходити необхідні відповіді на питання. Включає елементи: рекламна діяльність, стимулювання збуту, зв'язки з громадськістю, персональний продаж.	Хруцький В. Є., Корнєєва І. В. [39, с. 258]
	Створення і підтримання постійних зв'язків між фірмою і ринком з метою активізації продажу товарів і формування позитивного іміджу шляхом інформування, переконання та нагадування про свою діяльність.	Гаркавенко С. С. [19, с. 409]

товару на ринок», проте ці поняття не завжди синонімічні. У зв'язку з цим у подальшій роботі нами систематизовано понятійно-категорійний апарат просування та маркетингових комунікацій за певними класифікаційними ознаками та згруповано його в чотири групи (Табл. 1, 2).

Визначено, що трактування досліджуваних понять науковцями відображають їх різноманітність. Більшість вітчизняних авторів пояснюють просування товару як процес певної дії через призму окремих інструментів маркетингових комунікацій. Значна частина авторитетних зарубіжних та українських науковців розглядають досліджувані поняття як комплекс елементів для досягнення ринкових, рекламних та маркетингових цілей організації. Деякі автори тлумачення згаданих вище понять охоплюють з позиції передачі інформації та зв'язків із різними суб'єктами ринку — споживачами, посередниками, постачальниками, акціонерами, конкурентами, органами державного управ-

ління та власного персоналу. В цілому, можна визначити, що сучасна теорія маркетингу не передбачає узгодженої позиції трактування цих понять.

У контексті Керівництва ВОЗ «Етичні критерії просування лікарських засобів на ринок» (*Ethical criteria for medicinal drug promotion. Geneva: World Health Organization; 1988*), що схвалене 13.05.1988 р. на 41-й сесії Всесвітньої асамблеї охорони здоров'я (Резолюція WHA41.17), поняття «просування на ринок» використовують щодо усіх видів інформаційно-рекламної діяльності, яку проводять фірми-виробники і фірми-постачальники для стимулювання призначення, поставки, закупівлі та/або використання лікарських засобів [34].

Варто зазначити, що науковці фармацевтичного сектора у більшості випадків трактують поняття «просування» та «маркетингові комунікації» як синоніми.

Таблиця 2

Систематизація категорійного апарату «маркетингові комунікації»

Класифікаційна ознака	Сутність поняття	Автор, джерело
Процес певної дії	Процес у середовищі взаємодії суб'єктів маркетингової системи (виробників, посередників, споживачів) з приводу узгодження і ухвалення тактичних і стратегічних рішень в маркетинговій діяльності.	Осташков А. В. [40, с. 258]
	Процес взаємодії суб'єктів маркетингової системи з приводу узгодження і прийняття тактичних і стратегічних рішень у маркетинговій діяльності.	Багієв Г. Л., Тарасевич В. М. [8, с. 440]
	Процес обміну інформацією між людьми з метою встановлення і підтримки ділових стосунків у процесі створення та обміну товарами.	Прохорова Т. І., Гронь А. В. [41, с. 15]
	Комунікативний процес між ринковими суб'єктами із застосуванням маркетингового механізму щодо їх раціонального формування.	Примак Т. О. [24, с. 14]
	Процес обміну інформацією між людьми при виробленні та продажі товарів, наданні послуг.	Орлов П. А., Косенко С. І. та ін. [42, с. 224]
	Процес передачі інформації про товар цільовій аудиторії.	Бернет Дж., Моріарті С. [2, с. 29]
	Концепція планування, яка виходить із необхідності оцінки стратегічної ролі окремих напрямків маркетингових комунікацій і пошуку оптимального їх поєднання для забезпечення чіткості, послідовності і максимізації впливу комунікативних програм за допомогою інтеграції всіх дискретних повідомлень.	Котлер Ф. [5, с. 402]
	Діяльність, сукупність засобів і конкретні дії з пошуку, аналізу, генерації і розповсюдження інформації, значимої для суб'єктів маркетингових відносин.	Панкрухин А. П. [12, с. 307]
	Сукупність технологій просування товарів або послуг, до яких прийнято відносити рекламу, прямий маркетинг, стимулювання збуту, зв'язки з громадськістю.	Шарков Ф. І. [43, с. 11]
	Основа для усіх сфер ринкової діяльності, мета яких досягнення успіху в процесі задоволення сукупних потреб суспільства.	Синяєва І. М., Земляк С. В., Синяєв В. В. [13, с. 12]

Таблиця 2 (продовження)

Класифікаційна ознака	Сутність поняття	Автор, джерело
Досягнення цілей	Основний інструмент маркетингової стратегії та практичної реалізації ринкових цілей організації.	Ян В. Віктор [15, с. 15]
	Діяльність підприємства, спрямована на інформування, переконання і нагадування цільовій аудиторії про його товари, стимулювання їх збуту, створення позитивного іміджу фірми у суспільстві та налагодження тісних взаємовигідних партнерських зв'язків між підприємством і громадськістю, а також оцінювання ринкової ситуації через зворотний інформаційний потік з метою адаптації цілей фірми до ситуації, що склалася.	Примак Т. О. [24, с. 14]
	Комплексний вплив фірми на внутрішнє й зовнішнє середовище з метою створення сприятливих умов для стабільної прибуткової діяльності на ринку.	Бутенко Н. В. [44, онлайн ресурс]
	Розглядаються як система, що характеризується широким спектром традиційних інструментів та новітніх, спрямованих на досягнення маркетингових цілей.	Ілляшенко С. М. [22, с. 596]
	Комплекс дій фірми, спрямований на інформування, переконання чи нагадування споживачам про свої товари або послуги для активізації продажу товарів і створення позитивного іміджу фірми.	Храбатин О. І., Яворська Л. В. [45, с. 245]
	Комплекс, який об'єднує учасників, канали і прийоми комунікацій організації, спрямований на встановлення і підтримання певних, запланованих цією організацією взаємовідносин з адресатами комунікацій, на формування у них сприятливих для комунікатора психологічних установок в межах і з метою досягнення його маркетингових цілей.	Ромат Є. В. [25, с. 129]
Передача інформації	Передача інформації про товар цільовій аудиторії споживачів.	Лідовська О. П. [11, с. 11]
	Передача повідомлень споживачам з метою зробити продукти і послуги компаній привабливими для цільової аудиторії.	Белявцев М. І., Іваненко Л. М. [46, онлайн ресурс]
	Комплекс заходів, які використовує фірма для інформування, переконання чи нагадування споживачам про свої товари (послуги).	Войчак А. В. [17, с. 178]
Зв'язки з суб'єктами ринку	Усі види сигналів та повідомлень, які розроблені фірмою для різної аудиторії: споживачів, торговельних посередників, постачальників, акціонерів та органів влади, а також для її власного персоналу.	Ламбен Ж. Ж. [7, с. 661]
	Система встановлення контактів зі споживачами для прямого і непрямого інформування, переконання і нагадування про торгову марку.	Келлер К. Л. [4, с. 269]
	Візуальний інструмент маркетинг-міксу, який включає усі інструменти, за допомогою яких компанія підтримує зв'язки з цільовими групами та зацікавленими сторонами для просування її продукції або компанії.	Пелсмакер П., Геуенс М., Ван Ден Берг Дж. [3, онлайн ресурс]
	Комплекс, що поєднує усіх суб'єктів ринкової діяльності, усі засоби комунікацій, що спрямовані на встановлення та процес стосунків з адресатами комунікацій в межах програми просування, яка реалізується компанією і маркетинговою політикою усіх суб'єктів ринку.	Душкіна М. Р. [10, с. 15]
	Зв'язки, що утворюються фірмою з контактними аудиторіями (споживачами, постачальниками, партнерами і т. п.) за допомогою різних засобів дії, до яких належать реклама, PR, стимулювання збуту, пропаганда, особистий продаж, а також неформальні джерела інформації у вигляді чуток.	Романов А. А., Панько А. В. [47, с. 11]
	Інструмент виробника в його взаємозв'язках зі споживачем.	Лук'янець Т. І. [48, с. 10]
Сукупність сигналів, що виходять від підприємства на адресу різноманітних аудиторій: посередників, конкурентів, споживачів, постачальників, акціонерів, органів державного управління, власного персоналу.	Норіцина Н. І. [49, с. 6]	

На думку авторів [31], просування препаратів — це те, що об'єднує весь комплекс фармацевтичного маркетингу. Просування є тим засобом, за допомогою якого продукт, його ціна і методи розподілу мають бути пояснені послідовно і переконливо. Тому просування визначає, як компанія проінформує ринки про продукт, способи поширення і ціну.

Як зазначається у роботі [28], просування — це вплив на кінцевих споживачів (за допомогою реклами, стимулювання продажів у аптеці, безкоштовних зразків для лікарів, пробників та ін.) та робота з проміжними ланками (оптовиками, лікарями, провізорами), мережею медичних та торгових представників.

Просування препарату — це, перш за все, процес комунікації з обраною цільовою аудиторією. Форма інформування цільової аудиторії про препарат [32].

Просування фармацевтичної продукції є стрижнем структури маркетингу. Це інструмент, за допомогою якого відомості про товар, його ціну і наявність в каналах розподілу доводяться до цільової аудиторії цієї компанії [33].

Просування — це створення та підтримання постійних зв'язків між підприємством і ринком з метою активізації продажу товарів і формування позитивного іміджу за допомогою інформування, переконання й нагадування про свою діяльність. У роботі науковців [30] зазначається, що політика просування проводиться з метою збільшення продажів, підвищення їх ефективності та загальної прибутковості підприємницької діяльності. Окрім того, автори акцентують увагу, що маркетингові комунікації дозволяють передавати повідомлення споживачам з метою створення привабливості продуктів та послуг підприємства для цільової аудиторії. Також у праці [30] ототожнюються поняття «комплекс просування», «комплекс маркетингових комунікацій», «інтегровані маркетингові комунікації», «маркетинг-мікс», «комунікативний мікс».

Як зазначається в роботі [29], просування ліків на ринку здійснюється за допомогою системи маркетингових комунікацій. Авторами діяльність підприємств, що спрямована на інформування, переконання та нагадування споживачам про свої препарати, стимулювання їх збуту і створення позитивного іміджу підприємств в очах громадськості, розглядається як система маркетингових комунікацій.

На думку науковця [50], маркетингові комунікації — це діяльність підприємства, спрямована на інформування, переконання та нагадування цільовій аудиторії про його товари, стимулювання їх збуту, створення позитивного іміджу фірми у суспільстві та налагоджування

партнерських зв'язків між підприємством та громадськістю.

Отже, проведений огляд досліджуваних понять серед науковців фармацевтичного сектора свідчить, що їх прихильників об'єднує дотримання певних фундаментальних положень класичного маркетингу, і, як наслідок, трактування поняття «просування товару» ототожнюється з «маркетинговими комунікаціями».

Проте, на нашу думку, поняття «маркетингові комунікації» та «просування» лікарських препаратів різняться між собою. Так, просування препарату є загальним поняттям, що передбачає фізичне переміщення фармацевтичного товару на ринку в ланцюзі виробник-споживач із застосуванням усіх елементів комплексу маркетингу, у тому числі й маркетингових комунікацій. Маркетингові комунікації ж спрямовані на багатосторонні комунікативно-інформаційні зв'язки фармацевтичного підприємства з усіма суб'єктами ринку. Так, маркетингові комунікації застосовуються суб'єктами фармацевтичного ринку під час проведення маркетингових досліджень, в процесі розробки та впровадження нових лікарських засобів, при постачанні товару, обґрунтуванні доцільності виходу на певні ринки та сегменти товару, формуванні корпоративного іміджу організації, налагоджуванні партнерських зв'язків між підприємством та громадськістю. Спільною характеристикою, яка об'єднує ці поняття, є комунікації з цільовими аудиторіями.

Становлення сучасної теорії маркетингу, кардинальні зміни в комунікативному просторі спільноти знайшли своє відображення і в розвитку маркетингових комунікацій у фармацевтичному секторі галузі охорони здоров'я України. Сьогодні традиційні інструменти маркетингових комунікацій у системі просування лікарських засобів заміщуються та/або доповнюються інноваційними із застосуванням digital-технологій з урахуванням потреб сучасного споживача. Серед них соціальні медіа (соціальні мережі, тематичні блоги та форуми, Інтернет-співтовариства, відео- та фотохостинги), Інтернет-реклама (медійна, контекстна та PPC, геоконтекстна, таргетована реклама, продакт-плейсмент), пошуковий маркетинг (SEM) і пошукова оптимізація (SEO), мобільні додатки, SMS-розсилки, електронні публікації, CLM-системи, iVideo, інформаційні Інтернет-портали, електронний медичний (фармацевтичний) консультант в аптеці та ін. [51].

Отже, спираючись на проведений контент-аналіз, на наш погляд, можна сформулювати такі визначення понять «просування» та «маркетингові комунікації» лікарських засобів з

урахуванням галузевої специфіки галузі охорони здоров'я.

Просування лікарських засобів — це фізичне надходження на ринок та переміщення у каналах розподілу від виробника до кінцевого споживача фармацевтичного товару із консолідованим застосуванням маркетингових комунікацій з усіма елементами комплексу маркетингу для успішного досягнення поставлених цілей організації та забезпечення доступності ліків усім верствам населення країни.

Маркетингові комунікації лікарських засобів — це інтегрована діяльність фармацевтичних підприємств із застосуванням традиційних та інноваційних інструментів і цифрових технологій, яка спрямована на інформування, переконання й нагадування усім суб'єктам галузі охорони здоров'я про соціально-спрямовані орієнтири та програми щодо цільової аудиторії, лікарські засоби та методи стимулювання їх збуту на усіх рівнях каналів розподілу; розробка й формування позитивного корпоративного іміджу організації та її торгової марки серед спільноти вітчизняного та міжнародних ринків, налагодження конструктивних, багатосторонніх та взаємовигідних партнерських зв'язків з громадськістю, оцінка та корегування ринкової позиції за допомогою зворотного інформаційного зв'язку з метою досягнення стратегічних, тактичних та оперативних цілей організації.

Висновки

За результатами проведеного контент-аналізу праць зарубіжних та вітчизняних науковців автором узагальнено та систематизовано за певними класифікаційними ознаками категорійний апарат понять «просування» та «маркетингові комунікації», виокремленні їхні розбіжності, вдосконалено та запропоновано відповідно до особистого бачення та новітньої парадигми трактування понять «просування» та «маркетингові комунікації» лікарських засобів з урахуванням галузевої специфіки і сучасних аспектів інформаційно-комунікативної складової. Результати дослідження будуть використанні у подальших наукових та освітніх розробках.

ЛІТЕРАТУРА

1. Основы маркетинга / Котлер Ф., Армстронг А., Вонг В., Сондерс Дж.; 5-е европ. изд.; пер. с англ. — М.: ООО Вильямс, 2013. — 752 с.
2. Бернет Дж. Маркетинговые коммуникации: интегрированный подход / Дж. Бернет, С. Мориарти; пер. с англ. под ред. С. Г. Божук. — СПб.: Питер, 2001. — 864 с.
3. Marketing Communications: A European Perspective / Patrick De Pelsmacker, Maggie Geuens, Joeri Van Den Bergh; 4th edition. — Н.: Pearson Education Limited. — 2010. — 689 p.
4. Келлер К.Л. Стратегический брэнд-менеджмент: создание, оценка и управление марчным капиталом; 2-е изд., пер. с англ. / К.Л. Келлер. — М.: Вильямс. — 2005. — 704 с.

5. Котлер Ф. Маркетинг менеджмент. Экспресс-курс; пер. с англ. под ред. Ю.Н. Каптуревского / Ф. Котлер. — СПб.: Питер, 2004. — 496 с.
6. Котлер Ф. Основы маркетинга : краткий курс; пер. с англ. / Ф. Котлер. — М.: Вильямс, 2007. — 656 с.
7. Ламбен Ж.Ж. Менеджмент, ориентированный на рынок / пер. с англ. под ред. В.Б. Колчанова / Ж.Ж. Ламбен. — СПб.: Питер, 2004. — 800 с.
8. Багиев Г.Л. Маркетинг: учебн. для вузов / Г.Л. Багиев, В.М. Тарасевич. 3-е изд. — СПб.: Питер, 2010. — 576 с.
9. Божкова В.В. Реклама та стимулювання збуту: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / В.В. Божкова, Ю.М. Мельник. — 2-ге вид., стереотипне. — К.: Центр учбової літератури, 2009. — 200 с.
10. Душкина М.Р. PR и продвижение в маркетинге : коммуниции и воздействие, технологии и психология: учеб. пособ. / М.Р. Душкина. — СПб.: Питер, 2010. — 560 с.
11. Лидовская О.П. Оценка эффективности маркетинга и рекламы. Готовые маркетинговые решения / О.П. Лидовская. — СПб.: Питер, 2008. — 141 с.
12. Панкрухин А.П. Маркетинг : учеб. для студ., обуч. по спец. 061500 «Маркетинг» / А.П. Панкрухин; Гильдия маркетологов. — 4-е изд., стер. — М.: Омега Л, 2006. — 656 с.
13. Синяева И.М. Маркетинговые коммуникации: учебн. / И.М. Синяева, С.В. Земляк, В.В. Синяев; под ред. проф. Л.П. Дашкова. — М.: Дашков и Ко, 2005. — 304 с.
14. Шарков Ф.И. Современные маркетинговые коммуникации : слов.-справ. / Ф.И. Шарков. — М.: Альфа-Пресс, 2006. — 348 с.
15. Ян В. Виктор. Продвижение. Система коммуникации между предпринимателями и рынком; пер. с польского / В. Виктор Ян. — Харьков: Гуманитарный Центр, 2003. — 480 с.
16. Балабанова Л.В. Стратегічний маркетинг : підручн. / Л.В. Балабанова, В.В. Холод, І.В. Балабанова. — К.: Центр учбової літератури, 2014. — 612 с.
17. Войчак А.В. Маркетинговий менеджмент : підручн. / А.В. Войчак. — К.: КНЕУ, 1998. — 268 с.
18. Павленко А.Ф. Маркетинг: підручн. / А.Ф. Павленко, А.В. Войчак. — К.: КНЕУ, 2003. — 246 с.
19. Гаркавенко С.С. Маркетинг: підручн. / С.С. Гаркавенко. — К.: Лібра, 2004. — 712 с.
20. Зозулев А.В. Маркетинг : учебн. пособ. / А.В. Зозулев, Н.С. Кубышина; под ред. С.А. Солнцева. — К.: Знання; М.: Рыбари, 2011. — 421 с.
21. Зундэ В.В. Концепция формирования системы интегрированных маркетинговых коммуникаций : монография / В.В. Зундэ. — М.: Экон. науки, 2008. — 180 с.
22. Маркетинг : бакалаврський курс: підручн. / за заг. ред. д.е.н., проф. С.М. Ілляшенка. — Суми: Університетська книга, 2014. — 1134 с.
23. Крамаренко В.І. Маркетинг : навч. посібн. для студ. екон. спец. / В.І. Крамаренко, Б.І. Холод, І.В. Ванесва та ін. — Київ: ЦУЛ, 2003. — 258 с.
24. Примак Т.О. Маркетингові комунікації на сучасному ринку : навч. посібн. / Т.О. Примак. — К.: МАУП, 2003. — 200 с.
25. Ромат Е.В. Реклама; 5-е изд. / Е.В. Ромат. — СПб.: Питер, 2002. — 544 с.
26. Лагуткина Т.П. Организационные аспекты продвижения лекарственных средств на фармацевтическом рынке / Т.П. Лагуткина, С.Н. Большова // Новая аптека. — Специальный выпуск. — 2001. — С. 59—62.
27. Лагуткина Т.П. Исследование организационных аспектов продвижения лекарственных средств / Т.П. Лагуткина, С.Н. Большова // Фармация. — 2002. — № 2. — С. 20—23.
28. Фармацевтический маркетинг / А.Ю. Юданов, Е.А. Вольская, А.А. Ишмухаметов, М.Н. Денисова. — М.: Ремедиум, 2007. — 589 с.
29. Фармацевтичний маркетинг : теоретичні та прикладні засади : навч. посіб. для фармац. ВНЗ і фармац. ф-тів мед. ВНЗ IV рівнів акредитації / Б.П. Громовик, Г.Д. Гасюк, О.Р. Левицька. — Вінниця: Нова Книга, 2004. — 464 с.

30. Мнушко З.М. Менеджмент та маркетинг у фармацевції. Ч. II. Маркетинг у фармацевції: підруч. для студ. ВНЗ. — 2-ге вид., доп. та перероб. / З.М. Мнушко, Н.М. Діхтярьова; за ред. З.М. Мнушко. — Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2010. — 512 с.
31. Фармацевтический маркетинг. Принципы, среда, практика / Микки С. Смит, Е.М. Коласса, Грег Перкинс, Брюс Сикер; пер. с англ. Н.Г. Мефодовской; ред. рус. изд. Ю.А. Крестинский, В.А. Мефодовский. — М.: Литтерра, 2005. — 392 с.
32. Пауков С.В. Маркетинг фармацевтической продукции / С.В. Пауков. — М.: Литература, 2005. — 255 с.
33. Усенко В. Фармацевтический маркетинг // Провизор. — 2000. — № 4. — режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/archive/2000/N4/phmar-ket.php>.
34. Руководство ВОЗ: Этические критерии продвижения лекарственных средств // Еженедельник Аптека. — 2007. — № 575 (4). — режим доступа: www.apteka.ua/article/4324.
35. Григорчук Т.В. Маркетинг: навч. посіб. для дистанц. навч. / Т.В. Григорчук. — К.: Відкритий міжнародний ун-т розвитку людини // режим доступа: <https://sites.google.com/site/marketingdistance/>
36. Маркетинг; под. ред. М. Бейкера. — СПб.: Питер, 2002. — 1200 с.
37. Завадський Й.С. Економічний словник / Й.С. Завадський, Т.В. Косовська, О.О. Юшкевич. — К.: Кондор, 2006. — 356 с.
38. Маркетинг: навч. посіб. / В.В. Липчук, Р.П. Дудяк, С.Я. Бугіаль, Я.С. Янишин. — Львів: Магнолія-2006, 2012. — 456 с.
39. Хруцкий В.Е. Современный маркетинг: настольная книга по исследованию рынка: учебн. пособ. / В.Е. Хруцкий, И.В. Корнеева. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Финансы и статистика, 2000. — 528 с.
40. Осташков А.В. Маркетинг: учебн. пособ. / А.В. Осташков — ПЕНЗА, 2005. — 303 с.
41. Прохорова Т.И. Маркетинговая политика коммуникаций: учеб. пособ. / Т.И. Прохорова, А.В. Гронец. — Харьков: ИД ИНЖЭК, 2005. — 224 с.
42. Маркетинг: навч. посібн. / П.А. Орлов, С.І. Косенко, Т.І. Прохорова та ін. — Харків: ВД ІНЖЕК, 2012. — 528 с.
43. Шарков Ф.И. Интегрированные бренд-коммуникации в системе интегрированных маркетинговых коммуникаций / Ф.И. Шарков. — М.: РИП-холдинг, 2004. — 243 с.
44. Бутенко Н.В. Основы маркетингу: навч. посібн. / Н.В. Бутенко. — К.: ВПЦ Київський університет, 2003. — 160с.
45. Храбатин О.І. Маркетинг: навч. посібн.; за наук. ред. О.А. Тимчик / О.І. Храбатин, Л.В. Яворська. — Київ: Видавництво, 2014. — 284 с.
46. Белявцев М.І. Маркетинг: навч. посіб. / М.І. Белявцев, Л.М. Іваненко. — К.: ЦНЛ, 2005. — 328 с.
47. Романов А.А. Маркетинговые коммуникации / А.А. Романов, А.В. Панько. — М.: Эксмо, 2006. — 432 с.
48. Лук'янець Т.І. Маркетингова політика комунікацій: навч. посібн.; 2-ге вид., доп. і перероб./ Т.І. Лук'янець. — К.: КНЕУ, 2003. — 524 с.
49. Норіцина Н.І. Маркетингова політика комунікацій. Курс лекцій / Н.І. Норіцина. — К.: МАУП, 2013. — 120 с.
50. Євтушенко О.М. Маркетингові комунікації / О.М. Євтушенко // Фармацевтична енциклопедія; голова редакції та автор передмови В.П. Черних. — 3-тє вид., переробл. і доповн. — К.: Моріон, 2016. — С. 1031.
51. Ольховська А.Б. Систематизація інноваційних інструментів маркетингових комунікацій у просуванні лікарських засобів: наук.-мет. рек. / А.Б. Ольховська, В.В. Малий. — Харків: НФаУ, 2016. — 32 с.

УДК 615.1: 339.13

Резюме

Ольховская А. Б.

Национальный фармацевтический университет

Анализ расхождений категорийного аппарата «продвижение» и «маркетинговые коммуникации» лекарственных средств и его совершенствование с учетом отраслевой специфики

С учетом рационального применения потенциала инновационных инструментов маркетинговых коммуникаций в системе продвижения лекарственных средств субъектами хозяйствования фармацевтического сектора возникла потребность в научно-обоснованном понимании, тщательном анализе и усовершенствовании сути категорийного аппарата понятий «маркетинговые коммуникации» и «продвижение» с учетом отраслевой специфики.

По результатам проведенного контент-анализа научных разработок зарубежных и украинских ученых автором обобщен и систематизирован категорийный аппарат понятий «продвижение» и «маркетинговые коммуникации», выделены их разногласия, усовершенствована и предложена в соответствии с личным видением и новейшей парадигмой трактовка понятий «продвижение» и «маркетинговые коммуникации» лекарственных средств.

Ключевые слова: продвижение, маркетинговые коммуникации, лекарственные средства.

UDC 615.1: 339.13

Summary

Olkhovska A. B.

National University of Pharmacy

Analysis of differences of the «promotion» and «marketing communication» categorial framework of medicinal products and its improvement taking into account the specific character of the industry

In the paper the author according to the results of the content analysis of the works and developments of the foreign and Ukrainian scientists summarized and systematized, based on the certain criteria of classification, the categorial framework of the notions of «promotion» and «marketing communication», emphasized the differences between them, improved and proposed according to the personal vision and the newest paradigm for interpreting the notions of «promotion» and «marketing communication» of medicinal products taking into account the specific nature of the industry and modern trends of the development of the information and communication space of society. The differences between the notions of «promotion» and «marketing communication» of medicinal products were explained. Thus, the medicines promotion is a common notion, that provides for physical flow of pharmaceutical product in the market in the manufacturer-consumer chain using all element of the marketing complex, including marketing communication. Marketing communication is focused on the multiple communication-information relations of pharmaceutical manufacturer with all participants of the market. Thus, marketing communication is used by the participants of the pharmaceutical sector while conducting marketing research, during the process of development and introduction of new medicinal products, delivery of goods, the study of feasibility of entrance to certain markets and segments, formation of the organization corporate identity, partnering between the enterprise and public. A general characteristic, uniting these two notions, is communication with targeted audiences.

Keywords: promotion, marketing communications, medicinal products.

Ольховська Анжела Борисівна. ORCID ID: 0000-0002-0237-5741. Доцент кафедри фармацевтичного маркетингу та менеджменту Національного фармацевтичного університету, доцент (2006), к. фарм. н. (2000).

До відома авторів журналу «Фармаком»

ВИМОГИ ДО ПУБЛІКАЦІЙ

ЗАГАЛЬНІ ВИМОГИ

1. Редакція журналу приймає до розгляду аналітичні статті з актуальних питань розвитку науки та інноваційної діяльності у фармацевтичній галузі як в Україні, так і у світі.
2. У журналі також друкуються інформаційні повідомлення про ювілейні дати, пам'ятні та видатні події у сфері фармації.
3. Статті піддаються науковому рецензуванню, за результатами якого ухвалюється рішення про доцільність публікації роботи. Також за результатами наукового рецензування статті можуть бути повернені авторам на доопрацювання. Відправлені авторам на доопрацювання і виправлення статті слід повернути до редакції не пізніше ніж за 7 днів після отримання.
4. Відхилені статті не повертаються і повторно не розглядаються.
5. Редакція залишає за собою право редакційної правки статей, яка не спотворює їхнього змісту.
6. Матеріали статей та коректура авторам не повертаються.
7. Публікація матеріалів у науково-практичному журналі «Фармаком» платна. Вартість розміщення статті — 46 грн / 1 стор. у Word. Якщо публікація термінова, оплата здійснюється за подвійним тарифом.
8. Оплата здійснюється після рецензування статей і їх схвалення до друку, про що авторів повідомляють додатково.
9. Робота подається українською, російською або англійською мовою, в 2 примірниках, підписаних усіма авторами, а також в електронному варіанті електронною поштою або на електронному носії.
10. До статті має додаватися заява автора (за наявності співавторів — спільна, за підписами усіх співавторів) про те, що стаття є власною розробкою автора (авторів), ніде раніше не друкувалася і не знаходиться на розгляді в інших виданнях), і експертний висновок про можливість публікації у відкритій пресі.
11. Відповідальність за достовірність інформації в публікаціях несуть автори.
12. Оригінали статей і рецензій зберігаються в редакції протягом 1 року після виходу відповідного номера.

СТРУКТУРА І ЗМІСТ СТАТТІ

1. УДК (на початку статті в лівому верхньому куті).
2. Назва статті мовою статті (рядковими літерами жирним шрифтом).
3. Прізвище І.Б., Прізвище І.Б. мовою статті.
4. Назва організації або установи, де працює(ють) автор(и), мовою статті.
5. Резюме мовою статті (80-150 слів). У резюме слід відобразити мету статті, постановку проблеми, основні висновки. При складанні резюме рекомендується дотримуватися вимог ДСТУ 7.9-95.
6. Ключові слова (5-7 слів).
7. Основний текст статті. Рекомендується структурувати роботу за допомогою підзаголовків. Стаття може містити такі елементи:

- *Вступ* (слово «Вступ» писати не обов'язково): містить постановку проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, на яких засноване розв'язання даної проблеми і на які спирається автор, виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим і присвячується означена стаття; формулювання цілей статті (постановку задачі);
 - *Матеріали і методи досліджень*: викладають основний матеріал дослідження;
 - *Результати досліджень і їх обговорення*: наводять обґрунтування отриманих наукових результатів. У даному розділі слід уникати прямого повторення даних з таблиць. Обговорення результатів необхідно обмежити розглядом лише найважливіших встановлених фактів з урахуванням попередніх даних щодо досліджуваного питання. Інакше кажучи, більша частина обговорення має бути присвячена інтерпретації результатів.
 - *Висновки*: наводять висновки з даного дослідження і перспективи подальших розробок у даному напрямку.
8. Література: список використаних джерел інформації, оформлений згідно з ДСТУ ГОСТ 7.1:2006. Список літератури надається в порядку цитування джерел у статті. У тексті посилання на використані джерела нумеруються в порядку появи і позначаються в квадратних дужках [1, 2, 3-10].
 9. Переклад на англійську та російську мову заголовка статті, П.І.Б. авторів, назв організацій і ключових слів.
 10. Розширене резюме англійською мовою (150-300 слів).
 11. Відомості про авторів мовою статті, що містять:
 - П.І.Б. усіх авторів (повністю, без скорочень);
 - назву посади, наукове звання (із зазначенням року), науковий ступінь (із зазначенням року);
 - місце роботи;
 - робочу адресу, контактні телефон та e-mail для листування (дані не публікуються в журналі).

ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ ТЕКСТУ

1. Формат сторінки — А4, книжкова.
2. Шрифт — Times New Roman.
3. Розмір шрифту — 14.
4. Інтервал — 2.0.
5. Вирівнювання — по ширині.
6. Поля документа — 2.5 мм.
7. Обсяг — не більше 15 сторінок (без урахування резюме).
8. Усі сторінки тексту мають бути пронумеровані.
9. Скорочення і умовні позначення, крім загальноновживаних у наукових і технічних текстах, застосовують у виняткових випадках або дають їх визначення при першому вживанні.
10. Усі вимірювання подаються в системі одиниць СІ.
11. Усі аббревіатури мають бути розшифровані при першому згадуванні.
12. У числах, які представляють собою десяткові дроби, цілі числа від дробової частини слід відокремлювати точкою.

13. Комп'ютерний набір статті має виконуватися в текстовому редакторі MS Word 97, під час написання в іншій версії — у форматі «rtf».
14. Формули мають бути набрані в редакторі формул, вбудованому в MS Word (Microsoft Equation).

Звертаємо увагу авторів, що при використанні ними формату «docx» деякі символи можуть бути втрачені при редакційній обробці.

ОФОРМЛЕННЯ МАЛЮНКІВ/ТАБЛИЦЬ

1. Ілюстрації мають бути виконані на професійному рівні, відповідати основному змісту статті й мають бути підписані.
2. Малюнки/таблиці наводяться в тексті статті, без обтікання.
3. Посилання на таблиці і малюнки наводяться в тексті статті як (Табл. 1, Рис. 1).
4. Графіки, діаграми та ін. рекомендується будувати в табличному редакторі Excel 97. Якщо є ілюстративний матеріал, створений за допомогою інших програм, зображення необхідно подавати у векторному форматі WMF.
5. На графіку мають бути позначені експериментальні точки.
6. Фотографії, файли з растровими зображеннями мають бути високої якості, не повинні мати дефектів (подряпини, плями, погана різкість, муар тощо). Формати файлів— «tiff», «bmp».
7. Криві, виконані на різних самописцях, мають бути роздруковані на білих аркушах без сітки.
8. Структурні хімічні формули обов'язково мають бути набрані в спеціалізованих програмах типу ChemWin і надані у векторному форматі «wmf».
9. Різні види ілюстративного матеріалу не мають дублювати один одного.

Зверніть увагу! Друкована версія журналу виходить у чорно-білому виконанні, авторам слід це враховувати при кольоровому оформленні графіків і малюнків.

При невиконанні зазначених вимог статті розглядатися не будуть.

Приклад заяви

Головному редактору журналу «Фармаком»
члену-кор. НАН України, д.фарм.н., професору
Георгієвському В.П.

ЗАЯВА

Цим засвідчую, що стаття, надана для публікації у науково-практичному журналі «Фармаком» (далі — «Фармаком») на тему «___», (___ стор.) є моєю власною розробкою, раніше не публікувалась і не друкувалась в інших наукових виданнях, не знаходиться на розгляді в інших журналах. Я ознайомився(лася) з вимогами до подання й оформлення наукових статей до журналу та даю згоду на публікацію статті у наступному номері «Фармакома».

«___» _____ 20__ р.

П.І.Б.



VIII Міжнародна виставка обладнання та технологій для фармацевтичної промисловості PHARMA Tech Expo

17-19 жовтня 2017 року у ВЦ «КиївЕкспоПлаза» відбудеться VIII Міжнародна виставка обладнання та технологій для фармацевтичної промисловості PHARMA Tech Expo. Це єдина в Україні виставка, в рамках якої представлений весь процес фармацевтичного виробництва: від розробки субстанцій та контролю якості сировини, устаткування для виробництва фармацевтичних препаратів і пакувальних технологій до транспортування, зберігання лікарських засобів і підбору персоналу.

Організатор виставки — компанія LMT.

Захід проходить за підтримки і сприяння Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я, Міністерства охорони здоров'я України, Державної служби України з лікарських засобів та контролю за наркотиками, Національної академії наук України, Національної академії медичних наук України.

Мета виставки — у сучасних реаліях сприяти:

- встановленню ділових контактів між виробниками, постачальниками обладнання та технологій для фармацевтичної промисловості та підприємствами галузі;
- обміну досвідом між фахівцями;
- об'єднанню науково-технологічного потенціалу фармацевтичної промисловості для розвитку і зміцнення галузі.

Тематичні напрями виставки:

- виробниче та невиробниче обладнання;
- сировина та інгредієнти;
- упаковка та пакувальне обладнання;
- лабораторно-аналітичне обладнання;
- комплексні рішення для фармацевтичних підприємств;
- технології «чистих приміщень»;
- технології для виробництва косметичної продукції;
- технології та обладнання для водоочищення та водопідготовки у фармацевтичному виробництві;
- промислове холодильне та кліматичне обладнання для фармацевтичних підприємств;
- послуги для компаній фармацевтичної індустрії;
- навчання та підготовка персоналу.

Серед експонентів — вітчизняні та світові виробники, постачальники обладнання та технологічних рішень для фармацевтичної промисловості.

У 2016 році у виставці брали участь: «Бютлер&Партнер», «Михайло Курако», HARKE Pharma GmbH, «МАРКЕЗІНІ ГРУП УКРАЇНА», «ФАРММАШ», IMA SpA, Rommelag AG, ОМАГ С.Р.Л., Термодистилляція РВ, «Система Лтд.», ІНОКСПА УКРАЇНА, «БВТ Україна», «ТК «Аврора», ECI Packaging Ltd (USA), «Ароніс Кодінг-Системи», САМРАКPOLAND, SEFAR AG, «СИСТЕМИ ЧИСТОЇ ВОДИ», «ПС «ФАРМПРОМ», НВП «Електрогазохім», Юнайтед Фільтрз, MediBalt Ltd, «КІТМЕД» ВФ та багато інших.

Серед торгових марок, представлених на PHARMA Tech Expo-2016: KINEMATICA, COMAS, Frewitt, Fuchs, Bergami, RussellFinex, RieraNadeu, GDN, Cora, L.B.Bohle, KorschAG, OptimaPharma, Heinollsemann, Waldner GmbH & Co.KG, SarongS.p.A., Seidenader, GUK, NETZSCHVakumix, BELIMEDSAUTERAG, MG2, PerfectPack, BASF, JRSPharma, Cognis, Magnesia, Ajinomoto, Pharmacoat, Metolose, НРМСphthalate, AQAOT, L-HPC, PVP, Gohsenol, Cellets, Shellac, PEO, MCC, Carbomer, Steriline, Romasco та багато інших.

Відвідувачі виставки — керівники та фахівці провідних вітчизняних виробників фармацевтичної продукції.

Платформа **PHARMAtechExpo** забезпечує експонентам прямий контакт з цільовою аудиторією. Це ефективний маркетинговий інструмент для розвитку бізнесу, підвищення впізнавання бренду, виведення новинок на ринок, розширення бази ділових контактів.

Під час роботи виставки в рамках науково-практичної програми «**Дні фармацевтичної промисловості**» відбудуться конференції, семінари, круглі столи, презентації обладнання в дії.

Вхід вільний за умови реєстрації на сайті **Міжнародної виставки PHARMAtechExpo:**
www.pharmatechexpo.com.ua

ІСТОРИЧНА ДОВІДКА
про Міжнародну виставку PHARMAtechExpo 2016 року

120 компаній-учасниць з **13** країн

1826 зареєстрованих фахівців із всіх регіонів України та зарубіжжя

6 науково-практичних заходів

2432 м² виставкової площі

Дізнайтесь більше про сучасні інноваційні технології фармацевтичної індустрії — відвідайте VIII Міжнародну виставку обладнання та технологій для фармацевтичної промисловості PHARMAtechExpo
17-19 жовтня 2017 року в ВЦ «КиївЕкспоПлаза», Київ, вул. Салютна, 2-Б!

Детальна інформація:

Тел./факс: +380 (44) 206-10-19, 206-10-16

marketing@pharmatechexpo.com.ua

www.pharmatechexpo.com.ua