

до 6,00 %. Встановлено, що залежно від характеру хімічної реакції (комплексотворення, осаджування, ідентифікація за продуктами гідролізу і/або розпаду, визначення флуоресценції та ін.) планування і обсяг експерименту відрізняються.

Ключові слова: екстемпоральні лікарські засоби, хімічний аналіз, валідація.

Резюме

Евтифеева О.А. *Методологические аспекты оценки химических методов идентификации веществ, которые входят в состав экстемпоральных лекарственных средств.*

В результате обработки стандартизированной процедуры валидации методики идентификации на основе химических методов анализа модифицированы, усовершенствованы и валидированы методики идентификации компонентов для 38 экстемпоральных лекарственных средств (порошки, растворы, мази), концентрация которых варьировала от 0,01% до 6,00%. Установлено, что в зависимости от характера химической реакции (комплексобразования, осаждения, идентификация за продуктами гидролиза и/или распада, определения флуоресценции и др.) планирование и объем эксперимента отличаются.

Ключевые слова: экстемпоральные лекарственные средства, химический анализ, валидация.

Summary

Ievtifieieva O.A. *Methodological aspects of chemical methods for the identification of substances that are part of extemporaneous preparations.*

The processing of standardized validation procedure identification technique based on chemical analysis methods modified, developed and validated methods for the identification of the components 38 of extemporaneous preparations (powders, solutions, ointments), the concentration of which varied from 0.01% to 6.00%. Found that, depending on the nature of the chemical reaction (complexation, precipitation, identification of hydrolysis products and/or decay, determine fluorescence, etc.) and the amount of planning of the experiment are different.

Key words: extemporaneous preparations, chemical analysis, validation.

Рецензент: д.фарм.н., проф. В.А. Георгіяни

УДК 615.244:615.322.015/.016:665.333.7

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОПУ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ

Т.М. Зубченко

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

В останні десятиріччя наголошується істотне зростання розповсюдження хвороб печінки і жовчних шляхів, що обумовлене порушенням екологічного балансу і підвищенням в навколишньому середовищі кількості шкідливих альтер'юруючих чинників, а також широким розповсюдженням гепатогенних вірусів [1-4].

Розторопша плямиста - *Silybum marianum* (L.) Gaerth., сім. Астрових - *Asteraceae*, як лікарська рослина використовується з давніх часів.

Унікальні гепатопротекторні властивості препаратів на основі плодів розторопші плямистої пов'язані з високим вмістом фенольних сполук – флаволігнанів (силібін, ізосилібін, дигідросилібін, силідіанін, силікрістин, ізосилікрістин, силімонін, силандрін та ін.) [4-5]. У традиційній медицині застосовується для лікування захворювань печінки та нормалізації травлення.

В численних дослідженнях, присвячених вивченню дії силімарину, показано, що стандартизовані екстракти із плодів розторопші виявляють високу специфічну ефективність при лікуванні хворих з хронічними гепатитами і цирозами, токсичними ураженнями печінки, у тому числі, що визиваються алкоголем, лікарськими препаратами, отрутохімікатами, солями важких металів і ін. [11].

Препарати розторопші плямистої ефективні також при хронічному гепатиті і цирозі печінки вірусної етіології, коли етіотропна терапія інтерфероном вже не може бути проведена. У таких пацієнтів підтримуюча терапія силімарином покращує фізичний стан і показники функціональних печінкових проб

В представлених раніше публікаціях [8,9] були наведені матеріали з розробки лікарських препаратів на основі сумарного екстракту плодів розторопші. Таким чином, була створена методологічна база для розробки гепатопротекторних лікарських засобів.

За попередніми дослідженнями було розроблено склад та тех-

нологію лікарського препарату гепатопротекторної дії на основі сумарного екстракту плодів розторопші у формі сиропу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота виконана у відповідності із планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та є фрагментом теми «Створення складу та технології одержання біологічно-активних речовин і лікарських засобів природного походження» (№ держреєстрації 0103U000477).

Мета роботи. Вивчення фізико-хімічних властивостей зразків сиропу гепатопротекторної дії на основі сумарного екстракту плодів розторопші.

Матеріали та методи дослідження

Для вивчення фізико-хімічних властивостей сиропу, на основі сумарного екстракту плодів розторопші, були використані методи фізико-хімічних досліджень у відповідності до вимог ДФУ [3] по загально прийнятним методикам: опис (п. 2.2.1., 2.2.2.), рН (п. 2.2.3.), відносна в'язкість (п. 2.2.8.), показник заломлення (п. 2.2.6.), відносна густина (п. 2.2.5.), оптична густина (п. 2.2.25.), кількісний вміст суми флаволігнанових сполук. При проведенні комплексу науково-дослідних робіт використовували прилади: спектрофотометри типу – СФ-46, ваги електронні фірми «Metler Toledo».

Отримані результати та їх обговорення

Визначення в'язкості сиропу проводили за допомогою капілярного віскозиметра, при температурі $(20 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. Значення відносної в'язкості розраховували за формулою:

$$\eta = \frac{t_{\text{сер}} * \rho}{t_{0\text{сер}} * \rho_0}$$

де: $t_{\text{сер}}$ – час витікання між верхньою і нижньою позначкою віскозиметра випробуваного зразка, сек.;

$t_{0\text{сер}}$ – час витікання між верхньою і нижньою позначкою віскозиметра води очищеної, сек.;

ρ – густина випробуваного зразка;

ρ_0 – густина води очищеної.

Дані представлені в табл. 1 показують, що в'язкість сиропу перевищує в'язкість води, що зумовлено наявністю сорбіту та пропіленгліколю. Відносну густину сиропу визначали за допомогою

пікнометрів з точністю до 0,001 (ДФУ, 1 вид., п. 2.2.5, метод 1). Рефрактометричним методом було досліджено показник заломлення розробленого препарату.

Таблиця 1

Фізико-хімічні та органолептичні показники сиропу гепатопротекторної дії

Показники	Сироп на основі сумарного екстракту плодів розторопші
Зовнішній вигляд	В'язка рідина жовтого кольору, солодкого смаку зі специфічним запахом
рН	4,8±0,2
Відносна в'язкість, ($\eta_{\text{відн}}$)	17,90±0,42
Показник заломлення	1,433±0,002
Відносна густина, г/см ³	1,176±0,001
Оптична густина	0,26±0,02
Кількісний вміст суми флаволігнанів, %	0,70±0,035

За результатами дослідження, наведеними в табл. 1, видно, що середовище досліджуваного сиропу слабко кисле (рН 4,8) і не викликає роздратування шлунково-кишкового тракту.

Також була проведена ідентифікація основних біологічно активних речовин (флаволігнанових сполук і редуруючих цукрів) осадкових реакцій і кольорових якісних реакцій. Результати наведені в табл. 2., табл. 3.

Таблиця 2

Результати проведення якісних реакцій на основні біологічно-активні групи сиропу

Реакції	Реактиви	Результати спостережень	
		субстанція силімарин	сироп розторопші
1 - реакція на флавоноїди	кислота хлористоводнева, стружка цинку	червоне фарбування	червоне фарбування
2 - відмінність від флавонів	кислота хлористоводнева, порошок магнію	жовте фарбування	жовте фарбування

Як видно з одержаних даних (табл. 2), якісною кольоровою реакцією з кислотою хлористоводневою і магнієм в результаті якої з'являється слабке жовто-оранжеве забарвлення підтверджує відмінність від флавонів. Кольорова реакція з кислотою хлористоводневою і цинком в результаті якої з'являється рожеве або червоне забарвлення підтверджує наявність флавоноїдів в сиропі в порівнянні з субстанцією силімарин.

Наявність редуруючих цукрів у сиропі підтверджується осадовими реакціями. Результати наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Результати проведення якісних реакцій на редууючі цукри сиропу

Реакції та реактиви	Результати спостережень
Реактив Фелінга	Жовтий осад
Резорцин у кислоті сірчаній концентрованої (фруктоза, глюкоза)	Жовте забарвлення, рожево-бурий осад
5 % спиртовий розчин тимолу (фруктоза, глюкоза)	Червоне забарвлення
Проба Моліша (α-нафтол з кислотою сірчаною конц.)	На межі шарів утворюється буре кільце

Для ідентифікації сполук флаволігнанів проводили якісне дослідження сиропу розторопші порівняно з сумарним очищеним екстрактом субстанції силімарин методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТСХ) в системі розчинників хлороформ - ацетон - кислота мурашина (5:2:2).

Аналіз методом ТСХ збільшує об'єктивність оцінки якості препарату. В наших дослідженнях для хроматографії застосовували пластинки Kieselgel 60 F254, фірми «Мерк» (Німеччина) 5x15 див. Дослідження в тонкому шарі (ТСХ) проводили методом вертикального елюювання. Результати значення Rf на хроматограмах є середніми величинами 5-6 визначень. Для ТСХ використовували наступну систему розчинників: хлороформ - ацетон - мурашина кислота (5:2:2). На лінію старту хроматографічної пластинки наносили 10 мкл випробовуваного розчину і 10 мкл розчину порівняння (рис. 1, табл. 4).

Коли фронт розчинників проходив до кінця пластинки, її виймали з камери, сушили на повітрі протягом 30 хв., потім в сушильній шафі при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 15 хв. в УФ - світлі за довжиною хвилі 254 нм. За результатами хроматограм по 3 основні плями і нижня пляма складалася з 2-х плям.

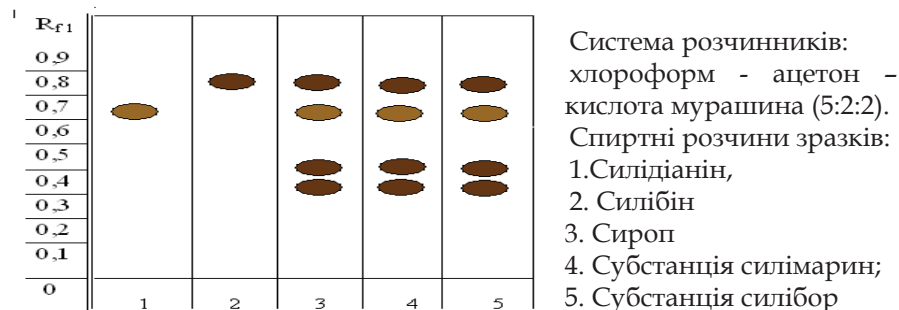


Рис. 1. Схема хроматограм в тонкому шарі сорбенту досліджуваних зразків.

Наявністю на хроматограмі випробовуваного розчину плями бурувато-жовтого кольору на рівні плями на хроматограмі розчину С3 (силібін) (Rf 0,8) і плями жовтувато-коричневого кольору з величиною Rf 0,7 (силідіанін) пляма бурого кольору з меншою величиною Rf (силікрістін) і ще нижче пляма буро-жовта (таксифолін) підтверджується дійсність препарату. Схема хроматограм приведена на рис. 1. Результати аналізу методом ТШХ (табл. 4).

Таблиця 4

Результати аналізу методом ТШХ

Об'єкти дослідження	Опромінення Уф-світлом	Значення Rf	Колір плями	Ідентифікація флаволігнанів
Хроматограми суми флаволігнанів в системі: хлороформ - ацетон - мурашина кислота (5:2:2):				
Сироп	254 нм	0,8	бурувато-жовтого кольору	силібін
	254 нм	0,7	жовтувато-коричневого кольору	силідіанін
	254 нм	0,6	бурого кольору	силікрістін
	254 нм	0,5	жовтого кольору	таксифолін
силімарин	254 нм	0,8	бурувато-жовтого кольору	силібін
	254 нм	0,7	жовтувато-коричневого кольору	силідіанін
	254 нм	0,6	бурого кольору	силікрістін
	254 нм	0,5	жовтого кольору	таксифолін
силібін	254 нм	0,8	бурувато-жовтого кольору	силібін
силідіанін	254 нм	0,7	жовтувато-коричневого кольору	силідіанін

З метою стандартизації сиропу кількісне визначення флаволігнанових сполук проводили методом спектрофотометрії в перерахуванні на силібінін стандарт [9]. УФ-спектри спиртового розчину в області від 240 до 300 нм мають максимум поглинання за довжиною хвилі (288±2) нм і мінімум за довжиною хвилі (257±3) нм, що аналогічно УФ-спектру силібініну стандарту.

Дослідження проводили на спектрофотометрі (СФ-46) у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм при довжині хвилі 290 нм. При цьому розрахунок вмісту суми флаволігнанів в сиропі проводили з поправковим коефіцієнтом 0,9, щоб вирівняти завищення результатів за рахунок супутніх речовин. В якості стандартної речовини використали стандартний зразок силібініну. Але даний метод недостатньо селективний, тому дослідження по кількісному визначенні силімарину було продовжено за методом розробленим на основі описаного у Німецькій фармакопеї 10 вид. Метод заснований на утворенні пофарбованих продуктів взаємодії флаволігнанів з 2,4-динітрофенілгідразином. В якості стандарту використовували силібінін стандарт. Для розрахунків використовували питомий показник поглинання пофарбованого продукту взаємодії силібініну з 2,4-динітрофенілгідразином. Для чого 10 мл сиропу кількісно переносили за допомогою 20 мл метанолу у мірну колбу місткістю 50,0 мл, збовтували протягом 20 хв. при нагріванні до 50°C, охолоджували, доводили об'єм розчину метанолом до позначки, переміщували і фільтрували крізь паперовий фільтр, відкидаючи перші 10 мл фільтрату (розчин А). 1 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 10,0 мл, додавали 2,0 мл розчину динітрофенілгідразину, колбу з вмістом занурювали у водяну баню з температурою від 50°C до 55°C і видержували протягом 50 хв. Потім охолоджували під краном, доводили об'єм до позначки розчином калію гідроксиду у метанолі і переміщували. Через 120 сек 1,0 мл розчину поміщали у центрифужну пробірку, додавали 20,0 мл метанолу, переміщували та центрифугували зі швидкістю обертання 10000 об/хв протягом 4 хв. Надосадовий розчин переносили у мірну колбу місткістю 50,0 мл; до залишку додавали 20,0 мл метанолу ретельно переміщували і знову центрифугували у тих самих умовах. Надосадовий розчин переносили у ту ж саму мірну колбу. Доводили об'єм розчину метанолом до позначки і переміщували.

Вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 490 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин, що скла-

дається з 1 мл метанолу, поміщеного у мірну колбу місткістю 10,0 мл і обробленого аналогічно розчину А. Вміст (силімарину) суми флаволігнанів (X) в 10 мл сиропу (одній дисертній ложці), у міліграмах, у перерахуванні на силібінін, обчислюють за формулою:

$$X = A * 50 * 1000 / 585$$

де: А - оптична щільність випробовуваного розчину; 585 - питомий показник поглинання силібініну;

Вміст (силімарину) суми флаволігнанів в одній дисертній ложці, у перерахуванні на силібінін має бути від 66,5 мг до 73,5 мг.

Таблиця 5

Результати вмісту силімарину у сиропі

Показники	Зразки сиропу, серії		
	11012	21012	31012
Вміст суми флаволігнанів в перерахунку на силібінін стандарт, мг	70,2±1,5	69,5±1,8	69,7±2,0

Примітка: n=5.

Результати аналізу зразків сиропу на основі сумарного екстракту силімарину одержані у наших дослідженнях наведені у табл. 5.

Висновки

1. Досліджено фізико-хімічні показники сиропу гепатопротекторної дії.

2. Проведено ідентифікацію основних біологічно активних речовин та кількісне визначення суми флаволігнанів у розробленому препараті.

3. Методами ТШХ встановлено наявність в порівнюваних зразках основної групи біологічно активних сполук флаволігнанів (силібін, силідіанін та ін.).

4. Сироп на основі сумарного екстракту розторопші за показниками якості відповідає вимогам ДФУ.

5. За даною темою продовжуються дослідження. Передбачається, що отримані результати будуть використані при розробці проекту методик контролю якості на сироп зі встановленням терміну придатності в процесі зберігання сиропу в залежності від виду упаковки.

Література

1. Государственная Фармакопея СССР. В 2-х т. - [1-е изд., доп.]. - М.: Медицина. - Вып. 1, 1987. - С. 24, 33, 87, 102, 113, 199. - Вып. 2, 1990 - С. 20, 23, 155, 160, 187, 193.

2. Державна Фармакопея України / ДП „Науковий-експертний фармакопейний центр”. - [1-е вид.]. - Харків: РІРЕР, 2001. - 556 с.

3. Зубченко Т.М. Вивчення можливості підвищення ступеня вивільнення суми флаволігнанів із капсульних мас силібору / Т.М. Зубченко // Фармаком. - 2007. - № 3 - С. 65-72.

4. Зубченко Т.М. Від нетрадиційних методів лікування до сучасних лікарських препаратів на основі плодів розторопші плямистої / Т.М. Зубченко, О.І. Тихонов // Матер. XXV Ювілейної науково-практичної конференції з міжнародною участю „Ліки – людині” (19 березня 2008 р., м. Харків). - Харків, 2008. - С. 67-69.

5. Зубченко Т.М. Комплексна переробка плодів розторопші плямистої з розробкою нового способу очистки та виділення субстанції силібор / Т.М. Зубченко, О.І. Тихонов, Н.М. Скакун // Вісник фармації. - 2006. - № 3 (47). - С. 10-14.

6. British Pharmacopoeia. Addendum 2005, Art. Syrups. - Electronic complete. Ed. CD. - London: The stationary office copyright, 2005.

7. Deutsches Arzneibuch. 10 Fassung (DAB 10). - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag., 1998. - «Baldrianwurzel».

8. European Pharmacopoeia. - [7th ed.]. - Strasbourg: Council of Europe, 2010. - Vol. 2. - P. 4800-4801.

9. USP Pharmacists' Pharmacopoeia. - [2nd ed.]. - Rockville: The United States Pharmacopoeial Ins., 2008. - 1519 p.

Резюме

Зубченко Т.М. Фізико-хімічні дослідження сиропу гепатопротекторної дії.

Проведено вивчення фізико-хімічних властивостей сиропу на основі сумарного екстракту плодів розторопші плямистої. Підтверджено наявність біологічно-активних сполук та визначено їх кількість в перерахунку на стандарт силібінин.

Ключові слова: сироп, силібінин, біологічно-активні сполуки.

Резюме

Зубченко Т.Н. Физико-химические исследования сиропа гепатопротекторного действия.

Проведено изучение физико-химических свойств сиропа на основе суммарного экстракта плодов расторопши пятнистой. Подтверждено наличие биологически-активных соединений и определено их количество в пересчете на силибинин.

Ключевые слова: сироп, силибинин, биологически-активные соединения.

Summary

Zubchenko T.N. Physical and chemical researches of syrup of hepatoprotective action.

Studying of physical and chemical properties of syrup on the basis of total extract of fruits of a thistle spotty is carried out. Existence of biological and active connections is confirmed and their quantity in terms of silibinin is defined.

Key words: syrup, silibinin, biological and active connections.

Рецензент: д.фарм.н., проф. В.І. Чушов

УДК 616.12-008.331.1-06:616.611-002.2

ВПЛИВ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ФАРМАКОТЕРАПІЇ НА СТАН ДІАСТОЛІЧНОЇ ФУНКЦІЇ ЛІВОГО ШЛУНОЧКУ У ХВОРИХ З СИМПТОМАТИЧНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ НИРКОВОГО ҐЕНЕЗУ

І.В. Кіреєв, Н.В. Жаботинська, О.О. Рябова,
В.Є. Кашута, М.Г. Бакуменко

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Симптоматична артеріальна гіпертензія (САГ) виявляється в 50% випадків всіх паренхіматозних захворювань нирок [9] і є одним з найпоширеніших порушень з боку серцево-судинної системи при хронічних гломерулонефритах (ХГН) [8]. Розвиток діастолічної дисфункції, при якій порушується як розслаблення, так і підвищується діастолічна жорсткість міокарду [7,10], відбувається внаслідок структурної зміни серцевого м'яза при САГ, а саме гіпертрофії міокарду лівого шлуночку (ГЛШ). В літературі зустрічаються відомості про те, що концентричний тип ГЛШ у хворих САГ супроводжується переважним порушенням діастолічної функції лівого шлуночку (ДФЛШ) і має найгірший прогноз по ускладненнях і смертності [3, 15]. Найбільш поширеним та інформативним неінвазивним методом вивчення ДФЛШ є доплер-ехокардіографія [4, 14], а оцінка стану діастолічної функції служить одним із способів вибору антигіпертензивної терапії [2]. В даний час препаратами першого ряду для лікування хворих з симптоматичною (ренопаренхіматозною) АГ [5, 6, 16] є інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (ІАПФ) у поєднанні з бета-адреноблокаторами, діуретиками і блокаторами кальцієвих каналів. Враховуючи актуальність вивчення ДФЛШ у хворих САГ з концентричним типом ГЛШ [3, 11, 12] і неоднозначність оцінки впливу різних препаратів на ДФЛШ [4, 16, 17], метою нашого дослідження явилось вивчення впливу комбінованої антигіпертензивної терапії, яка складала ІАПФ раміприл і блокатор кальцієвих каналів леркамен, на діастолічну функцію лівого шлуночку серця у хворих САГ ниркового генезу, які мають концентричний тип ГЛШ і клінічні ознаки хронічної серцевої недостатності (ХСН) І-ІІ функціональних класів (ФК).