УДК 615.451.1.014.24:634.511:547.98

А.В.ГУДЗЕНКО, канд. фармац. наук, О.О.ЦУРКАН, д-р фармац. наук, проф.,
Т.В.КОВАЛЬЧУК, канд. фармац. наук Державна лабораторія з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України»

ВИКОРИСТАННЯ РЕЧОВИН-МАРКЕРІВ – СУЧАСНИЙ ПІДХІД ДО СТАНДАРТИЗАЦІЇ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Ключові слова: речовини-маркери, багатокомпонентні рослинні суміші, стандартизація

Нині рослинні лікарські засоби широко застосовують у медичній практиці, вони становлять істотну частку серед усіх існуючих лікарських препаратів. Це зумовлено насамперед тим, що біологічно активні речовини (БАР) із сировини рослинного походження при використанні протягом тривалого часу не спричинюють значної побічної дії, є низькотоксичними та виявляють широкий спектр біологічної активності.

Як свідчать статистичні дані, вітчизняний ринок лікарських засобів рослинного походження, незважаючи на економічну кризу в країні, продовжує розвиватися та розширюватись. Зокрема, згідно з даними компанії SMD, що займається дослідженнями фармацевтичних ринків країн СНД, сегмент препаратів рослинного походження займає 8–9 % в натуральних одиницях (близько 117 млн одиниць упаковок лікарських засобів) та 4,3–4,4 % у грошових одиницях відносно загального обсягу фармацевтичного ринку України (514 млн грн. у 2008 р. та близько 700 млн грн. у 2009 р.) [13, 14].

Протягом останніх років у світовій фітотерапії спостерігається тенденція до більш поширеного використання багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження. Зокрема на фармацевтичному ринку України зареєстровано та добре зарекомендували себе понад 200 полікомпонентних фітозасобів [10]. Але існуючі нині методики аналізу вищезазначених фітозасобів здебільшого не відповідають сучасним фармакопейним вимогам, не є специфічними, не дають можливості проведення ідентифікації та визначення кількісного вмісту окремих компонентів суміші.

Одним з перспективних напрямів подальшого удосконалення процедури стандартизації багатокомпонентних фітозасобів на кожному з етапів їх виробництва є використання так званих маркерних сполук, або маркерів – речовин, наявність яких характерна лише для окремої лікарської сировини. Впровадження методик якісного та кількісного аналізу, заснованих на використанні маркерів, має не лише велике практичне значення, а й суттєву наукову доцільність.

Вказані моменти зумовлюють необхідність створення методології обгрунтування критеріїв для стандартизації та оцінки якості багатокомпонентних рослинних сумішей з урахуванням їх специфіки. Виходячи з цього, виникає необхідність у розробці методик ідентифікації та визначення маркерів у рослинній сировині, рослинних сумішах та готових багатокомпонентних лікарських засобах рослинного походження за допомогою селективних (головним чином хроматографічних) методів аналізу, які могли би використовувати на етапах розробки, контролю виробництва та оцінки якості виготовлених багатокомпонентних рослинних препаратів.

Головними етапами впровадження цієї методології є:

– пошук серед БАР рослин-маркерів, які, можливо, будуть різними залежно від складу рослинної суміші, що аналізується;

– розробка відповідних методик визначення маркерів за допомогою сучасних методів аналізу (використання високоселективних методів аналізу - ВЕРХ, ГРХ тощо дає змогу значно підвищити специфічність аналітичних досліджень, і в процесі проведення певного аналізу визначати як якісний, так і кількісний склад рослинних сумішей);

– вивченння впливу наявності БАР інших рослин, що входять до складу рослинних сумішей, на можливість вірогідного визначення зазначених маркерів;

© Колектив авторів, 2011

– дослідження вмісту вказаних маркерів в рослинній сировині залежно від різних факторів (регіон зростання, фаза вегетації, рік зберігання сировини тощо);

– розробка та створення нових підходів до технології виділення визначених маркерів із рослинної сировини та методик оцінки їх якості.

Враховуючи зазначене, даний напрям у створенні сучасних методик аналізу існуючих та потенційних багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП) є актуальним та відповідає світовим тенденціям фармацевтичної хімії та фармакогнозії.

До того ж необхідно детально розглянути й характеристики, яким мають відповідати речовини, що можуть бути використані в якості маркерів для аналізу БЛЗРП.

Згідно з даними доступної літератури тепер найбільш широко використовують такі терміни, як "молекулярний маркер" та "хемотаксономічний маркер".

Вважається, що молекулярним маркером може бути будь-який компонент складу рослинної сировини, за наявністю якого дана сировина може бути ідентифікована, тобто молекулярними маркерами можуть бути продукти первинного та вторинного метаболізму рослин, нуклеїнові кислоти, глікопротеїди, білки та ін. [11].

Термін "хемотаксономічний маркер" більшість авторів використовують згідно з власними цілями та завданням дослідження. Зокрема, під терміном "хемотаксономічний маркер" розуміють або речовину, наявність якої характерна лише для конкретної родини рослин, або речовину, що характерна тільки для конкретної рослини, або навіть кількісний рівень накопичення конкретної речовини в рослині [15–17].

При цьому як термін "молекулярний маркер", так і термін "хемотаксономічний маркер" не зовсім характеризують ті властивості, які повинні мати речовини-маркери, що використовуються для стандартизації БЛЗРП.

Безумовно, зазначені речовини мають відповідати певним вимогам, а саме:

1. Вибір речовин-маркерів має бути зумовлений складом і лікарською формою БЛЗРП.

2. Наявність і кількісний вміст речовин-маркерів у конкретній лікарській рослинній сировині мають бути індивідуальними і суттєво не змінюватися в процесі зберігання.

3. Можливість проведення якісного та кількісного визначення речовини-маркера одним з фармакопейних методів.

4. Речовини-маркери мають бути наявні як у вихідній лікарській рослинній сировині, так і в готовому фітопрепараті.

5. Речовини-маркери мають бути доступні для придбання через систему спеціалізованих хімічних каталогів (Fluka, Aldrich, Merck, Sigma тощо) або за неможливості мають бути наявні відтворювані методики їх синтезу або виділення.

Отже, на нашу думку, вважається можливим зробити таке визначення речовин-маркерів, що використовуються для стандартизації БЛЗРП: "Речовини-маркери для стандартизації багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження"– хімічні сполуки (в тому числі й білогічно активні), наявність та вміст яких у певному виді лікарської рослинної сировини є чітко індивідуальним, суттєво не змінюється при зберіганні, а їх кількісна та якісна оцінка в рослинних матрицях можлива з використанням фармакопейних методів.

Враховуючи можливість використання речовин-маркерів для розробки нових методологічних підходів до стандартизації БЛЗРП, для нас представляло безсумнівний інтерес провести пошук маркерів для компонентів, що найчастіше входять до складу БЛЗРП, що наявні на фармацевтичному ринку України.

Зокрема, нами визначено маркер для стандартизації ехінацеї пурпурової у БЛЗРП. Цим маркером може бути фенілпропаноїд – цикорієва кислота. В якості моделей для визначення можливості стандартизації ехінацеї пурпурової в рослинних сумішах були використані такі препарати: сироп «Імуно-Тон» (ЗАТ «Артеріум»), складна настоянка «Ладостим» (ВАТ «Біолік») та складна настоянка «Вітастим» (ВАТ «Біолік»). У результаті проведених досліджень з використанням методу ВЕРХ доказано можливість стандартизувати ехінацею пурпурову за наявності 11 рослинних компонентів, що наведені в таблиці [2].

Для визначення маркеру, за яким можлива стандартизація меліси лікарської в рослинних сумішах, в якості моделей використовували такі препарати: краплі "Антифронт" виробництва "Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd." (Угорщина) і складну настоянку "Седофлор" виробництва

АТ “Ефект” (Харків). У результаті проведених досліджень доведена можливість використовувати в якості маркера меліси лікарської розмаринову кислоту за наявності БАР 10 рослинних компонентів [3].

Маркерами трави деревію звичайного можуть бути флавонові аглікони – лютеолін і апігенін та терпеноїди – борнеол і 1,8-цинеол. Зокрема з використанням методів ВЕРХ та ГРХ розроблені хроматографічні методики, із застосуванням яких можлива стандартизація деревію звичайного за наявності БАР 10 та 5 рослинних компонентів відповідно (див. таблицю) [5, 6, 9].

В якості маркерів квіток нагідок лікарських можливо використовувати ізорамнетин [8] та ізорамнетин-3-рутинозид [12], для стандартизації коренів солодки голої – гліциризинову кислоту.

На роль маркеру чистотілу звичайного, крім алкалоїдів, склад яких в рослині дуже мінливий [1], може претендувати кофеїл-яблочна кислота, наявність якої в рослинній сировині вельми обмежена. Нами доказана можливість стандартизувати чистотіл звичайний за вмістом кофеїл-яблочної кислоти за наявності БАР 6 рослинних компонентів.

Маркерами квіток ромашки лікарської можуть бути флавоноїди апігенін та лютеолін [7]; скополетин та кофеїл-яблочна кислота можуть бути використані при стандартизації рослинних сумішей кропиви дводомної [4].

В якості моделі для визначення можливості стандартизації елеутерококу колючого в БЛЗРП було взято сироп „Імуно-Тон” (ЗАТ „Артеріум”). У результаті проведених досліджень було доведено можливість якісного та кількісного визначення елеутерококу колючого за вмістом елеутерозиду Е за наявності БАР ехінацеї пурпурової та звіробою звичайного.

Висновки

1. З метою приведення методик аналізу БЛЗРП до сучасних фармакопейних вимог запропоновано методологію, з використанням якої можлива якісна та кількісна стандартизація компонентів складних фітопрепаратів.

2. Визначені характеристики, яким мають відповідати речовини-маркери, що використовуються для стандартизації БЛЗРП.

3. Визначено маркери, з використанням яких можлива стандартизація 10 рослинних компонентів у комплексних фітопрепаратах.

Таблиця

Запропоновані маркери для стандартизації деяких компонентів БЛЗРП

№ п/п	Об'єкт дослідження	Маркер	Метод дослідження	Рослинні компоненти, за наявності яких можлива стандартизація за визначеним маркером
1	2	3	4	5
1	Ехінацея пурпурова (*Echinacea purpurea L.*), корені, квітки	Цикорієва кислота	ВЕРХ	Корені з кореневищами елеутерококу, трава звіробою звичайного, трава деревію звичайного, листя кропиви, листя м'яти перцевої, корені цикорію дикого, плоди шипшини, трава материнки звичайної, кореневища лепехи, плоди горобини звичайної, плоди горобини чорноплідної
2	Меліса лікарська (*Melissa officinalis L.*), листя, трава	Розмаринова кислота	ВЕРХ	Плоди глоду, трава кропиви собачої, шишки хмелю, плоди коріандру, трава буркуну лікарського , корені імбиру, корені солодки, листя чаю зеленого, корені куркуми
3	Деревій звичайний (*Achillea millefolium L.*), трава	Борнеол, 1,8-цинеол [5А]	ГРХ	Квітки нагідок лікарських, плоди глоду колючого, трава споришу, трава звіробою звичайного, плоди шипшини
		Лютеолін [6А]	ВЕРХ	Плоди глоду колючого, листя кропиви дводомної, шишки хмелю, корені цикорію дикого, квітки бузини чорної, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені кульбаби лікарської, трава звіробою звичайного, насіння льону
		Апігенін [7А]	ВЕРХ	
4	Чистотіл звичайний (*Chelidonium majus L.*), трава	Кофеїл-яблучна кислота	ВЕРХ	Трава деревію звичайного, листя м'яти перцевої, квітки ромашки лікарської, квітки нагідок лікарських, квітки пижмо звичайного, квітки лаванди колоскової
5	Нагідки лікарські (*Calendula officinalis L.*), квітки	Ізорамнетин [3А]	ВЕРХ	Корені цикорію дикого, корені ехінацеї пурпурової, корені кульбаби лікарської, корені та кореневища валеріани лікарської, плоди шипшини, листя м'яти перцевої, шишками хмелю
		Ізорамнетин-3-рутинозид [4А]	ВЕРХ	Плоди шипшини, плоди та квітки глоду колючого, шишки хмелю, листя м'яти перцевої, листя подорожника великого, квітки ромашки аптечної
6	Солодка гола (*Glycyrrhiza glabra L.*), корені	Гліциризинова кислота	ВЕРХ	Кора крушини ламкої, трава деревію звичайного, плоди коріандру, листя сени, трава кропиви собачої, листя м'яти перцевої, шишки хмелю, корені з кореневищами валеріани лікарської
7	Ромашка лікарська (*Chamomilla recutita L.*), квітки	Апігенін, лютеолін [8А]	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, насіння льону, плоди глоду колючого, трава споришу, кора дуба, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені кульбаби лікарської, трава звіробою, корені цикорію дикого
8	Кропива дводомна (*Urtica dioica L.*), листя	Скополетин [9А]	ВЕРХ	Плоди глоду колючого, трава споришу, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені та кореневища валеріани лікарської, кора крушини, кореневища лепехи, насіння льону
		Кофеїл-яблучна кислота	ВЕРХ	Квітки ромашки аптечної, листя м'яти перцевої, листя подорожника, плоди шипшини, корені цикорію дикого, корені з кореневищами валеріани лікарської, зерно вівса посівного, кора крушини ламкої, трава деревію звичайного, корені лепехи
9	Бузина чорна	Астрагалін	ВЕРХ	Корені валеріани лікарської, трава звіробою звичайного, корені цикорію дикого, насіння льону
10	Елеутерокок колючий	Елеутерозид Е	ВЕРХ	Трава звіробою звичайного, корені ехінацеї пурпурової

1. *Бузук Г.Н., Ловкова М.Я., Сабирова Н.С., Булатов А.А.* // Фармация. – 1991. – Т. 40, №5. – С. 37–40.

2. *Гудзенко А.В., Ковальчук Т.В., Цуркан О.О.* // Фармац. журн. – 2009. – № 1. – С. 130–135.

3. *Гудзенко А.В., Ковальчук Т.В., Цуркан О.О.* // Фармац. журн. – 2010. – № 5. – С. 70–74.

4. *Гудзенко А.В., Цуркан О.О., Ковальчук Т.В.* // Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2011. – Вип. 20, Кн. 3. – С. 467–473.

5. *Гудзенко А.В., Цуркан О.О., Ковальчук Т.В.* // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, № 2. – С. 61–64.

6. *Гудзенко А.В.* // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 6(19). – С. 62–68.

7. *Гудзенко А.В.* // Фітотерапія, часопис. – 2011. – № 2. – С. 84–87.

8. *Гудзенко А.В.* // Фітотерапія, часопис. – 2011. – № 1. – С. 80–83.

9. *Гудзенко А.В.* // Фармац. журн. – 2011. – № 1. – С. 79–84.

10. Компендиум 2009. Лекарственные препараты / Под ред. *В.Н.Коваленко, А.П.Вікторова*. – К: Морион, 2009. – 2224 с.

11. *Разживин Р.В.* Определение веществ-маркеров при исследовании комплексных препаратов из лекарственного растительного сырья: Дис. … канд. фармац. наук: 15.00.02. – М., 2008. – 149 с.

12. Пат. на корисну модель № 56796 Україна, МПК G01N 30/00. Спосіб стандартизації квіток нагідок лікарських (*Calendula officinlis L.*) в багатокомпонентних рослинних сумішах / *А.В.Гудзенко, О.О.Цуркан, Т.В.Ковальчук* (Україна). – № u 2010 008783; Заявл. 14.07.2010; Опубл. 25.01.2011, Бюл. № 2. – 7 с.

13. *Семак Б.Б., Барна М.Ю., Демкевич Л.І.* // Науковий вісник НЛТУ України. – 2011. – Вип. 21.1. – С. 264–268.

14. *Силивончик А.В.* // Бизнес. – 2010. – №38. – С. 60–62.

15. *Хотимченко С.В., Васьковский В.Е.* // Биоорганическая химия. – 2004. – Т. 30. – №2. – С. 190–194.

16. *Чадин И.* // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2001. – Вып. 46., № 8. – С. 23–25.

17. *Dias A., Tomas-Barberan F.A., Fernandes-Ferreira M., Ferreres F.* // Phytochemistry. – 1998. – Vol. 48, №7. – P. 1165–1168.

Надійшла до редакції 04.11.2011.

А.В.Гудзенко, А.А.Цуркан, Т.В.Ковальчук

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕЩЕСТВ-МАРКЕРОВ – СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К СТАНДАРТИЗАЦИИ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Ключевые слова: вещества-маркеры, многокомпонентные лекарственные средства растительного происхождения, стандартизация

С целью приведения методик анализа многокомпонентных лекарственных средств растительного происхождения к современным фармакопейным требованиям с применением маркерных соединений предложена методология, с использованием которой возможна качественная и количественная стандартизация компонентов сложних фитопрепаратов. Предложены маркерные соединения, с использованием которых возможна стандартизация 10 растительных компонентов сложных фитопрепаратов.

A.V.Gudzenko, O.O.Tsurkan, T.V.Kovalchuk

USE OF THE SUBSTANCE-MARKERS – A MODERN APPROACH
TO THE STANDARDIZATION OF MULTICOMPONENT HERBAL MEDICINES

Key words: Substance-**markers,** multicomponent herbal medicines, standardization

S U M M A R Y

In order to bring the techniques for analyzing multi-component herbal medicines for modern pharmacopoeia requirements, the application of marker compounds proposed methodology, which is possible with the use of qualitative and quantitative standardization of components of complex herbal medicines. Proposed marker compounds for standardization of the 10 components of complex plant medicines.